Aus der Universitäts - Frauenklinik Innsbruck

Direktor : Prof. Dr. O. Dapunt

VERHALTEN DER STEROIDHORMON - REZEPTOREN BEIM MAMMAKARZINOM

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Jürgen M a r t i n
aus DESSAU

Würzburg, den 4. Mai 1980

Aus der Universitäts - Frauenklinik Innsbruck

Direktor : Prof. Dr. O. Dapunt

VERHALTEN DER STEROIDHORMON - REZEPTOREN BEIM MAMMAKARZINOM

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Jürgen M a r t i n
aus DESSAU

Würzburg, den 4. Mai 1980

Referent : Prof. Dr. Otto Dapunt

Vorstand der Univ.-Frauenklinik Innsbruck

Korreferent : Prof. Dr. K.-H. Wulf

Vorstand der Univ.- Frauenklinik Würzburg

Dekan : Prof. Dr. K.-H. Wulf

Vorstand der Univ.-Frauenklinik Würzburg

Tag der mündlichen Prüfung : 14.11.1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

		Seite
1.0.0.	Einleitung	1
2.0.0.	Intrazellulärer Wirkungsmechanismus der Steroidhormone	2
2.1.0.	Historische Entwicklung	2
2.2.0.	Heutiger Stand des Wissens	4
2.2.1.	Aufnahme des Steroids in die Zielzelle	6
2.2.2.	Bindung des Steroids an den zytoplasmatischen Rezeptor	6
2.2.3.	Aktivierung des Steroid-Rezeptor-Komplexes	7
2.2.4.	Translokation in den Zellkern	7
2.2.5.	Bindung an das Chromatingerüst	7
2.2.6.	Inaktivierung des Steroid-Rezeptor-Komplexes	8
2.3.0.	Eigenschaften des Rezeptors	9
2.3.1.	Bindungsaffinität zu Steroiden und Bindungskapazität	9
2.3.2.	Spezifität der Steroidbindung	9
2.3.3.	Molekularer Aufbau	10
2.3.4.	Stabilität der Rezeptoren	10
2.4.0.	Regulation der Rezeptorsynthese durch Steroide	11
3.0.0.	Klinische Bedeutung der Rezeptoren beim Mammakarzinom	13
3.1.0.	Historische Entwicklung	13
3.1.1.	Entwicklung der Rezeptorentheorie	14
3.2.0.	Ergebnisse der ER-Bestimmung	14
3.2.1.	Klinische Korrelation	15
3.3.0.	Wege zur Verbesserung der Voraussage	17
3.3.1.	Rezeptor Quantität	17
3.3.2.	Bestimmung des Progesteron-Rezeptors	17
3.3.3.	Nachweis des 8S-Östrogen-Rezeptors	18
3.3.4.	Bestimmung der Kern-Östrogen-Rezeptoren	18
3.3.5.	Bestimmung der Östrogenkonzentration im Kern	18

		Seite
4.0.0.	Methodik der Rezeptorbestimmung	20
4.1.0.	Quantitative Bestimmung der Rezeptorbindungsstellen	20
4.2.0.	Trennung und Charakterisierung der verschiedenen molekularen Formen	22
5.0.0.	Material und Methoden	23
5.1.0.	Herstellung des Cytosols	24
5.2.0.	Bestimmung von Konzentrationen von Östrogen- und Progesteron-Rezeptoren	24
5.2.1.	DCC-Assay	24
5.2.2.	Auswertung der Ergebnisse	25
5.3.0.	Bestimmung der Sedimentationskoeffizienten für die Östrogenrezeptoren	26
6.0.0.0.	Ergebnisse	28
6.0.1.0.	Stadienverteilung	29
6.0.2.0.	Altersverteilung	30
6.2.0.0.	Lobuläres Karzinom	31
6.2.1.0.	Vorkommen von Östrogen- und Progesteronrezeptoren	31
6.3.0.0.	Ductale Karzinome	33
6.3.1.0.	Nicht invasive Milchgangskarzinome	33
6.3.2.0.	Infiltrierende Milchgangsgeschwülste mit produktiver Fibrose	33
6.3.2.1.	Altersverteilung	33
6.3.2.2.	Stadienverteilung	33
6.3.2.3.	Vorkommen von Östrogenrezeptoren	34
6.3.2.4.	Vorkommen von Progesteronrezeptoren	36
6.3.2.5.	Gleichzeitiges Vorkommen mehrerer Indikatoren für die Hormonabhängigkeit	37
6.3.2.6.	Molekulares Verhalten der Östrogenrezeptoren	38
6.3.3.0.	Carcinoma solidum simplex	40
6.3.3.1.	Altersverteilung	40
6.3.3.2.	Stadienverteilung	40
6.3.3.3.	Vorkommen von Östrogenrezptoren	41

Seite

6.3.3.4. Vorkommen von Progesteronrezeptoren 42
6.3.3.5. Gleichzeitiges Vorkommen mehrerer Indikationen für die Hormonabhängigkeit 43
6.3.3.6. Molekulares Verhalten der Östrogenrezeptoren 43
6.3.4.O. Adenoide Karzinome 45
6.3.4.1. Altersverteilung 45
6.3.4.2. Stadienverteilung 45
6.3.4.3. Vorkommen von Östrogenrezeptoren 45
6.3.4.4. Vorkommen von Progesteronrezeptoren 46
6.3.4.5. Gleichzeitiges Vorkommen mehrerer Indikatoren 46
6.3.4.6. Molekulares Verhalten der Östrogenrezeptoren 46
6.3.5.O. Mucinöses Karzinom 48
6.3.5.1. Altersverteilung 48
6.3.5.2. Stadienverteilung 48
6.3.5.3. Vorkommen von Östrogenrezeptoren 48
6.3.5.4. Vorkommen von Progesteronrezeptoren 48
6.3.5.5. Gleichzeitiges Vorkommen mehrerer Indikatoren für die Hormonabhängigkeit 48
6.3.6.O. Comedo-Karzinom 49
6.3.6.1. Altersverteilung 49
6.3.6.2. Stadienverteilung 49
6.3.6.3. Vorkommen von Östrogenrezeptoren 49
6.3.6.4. Vorkommen von Progesteronrezeptoren 50
6.3.6.5. Gleichzeitiges Vorkommen mehrerer Indikatoren für die Hormonabhängigkeit 50
6.4.O. Morbus Paget 52
6.5.O. Sarcom 52
6.6.O. Metastasen 52
6.7.O. Gutartige Veränderungen der Brustdrüse und normales Mammagewebe 54
6.7.1. Mammagewebe ohne pathologische Veränderungen 54
6.7.2. Cystosarcoma phylloides 54

Seite

6.7.3. Fibroadenom 54
6.7.4. Mastopathie 54
6.7.5. Gynäkomastie 54
6.8.0. Vorkommen von Rezeptoren im Mammakarzinom Gesamtübersicht 55
6.8.1. Vorkommen von Östrogenrezeptoren 55
6.8.2. Vorkommen von Progesteronrezeptoren 57
6.8.3. Gleichzeitiges Vorkommen mehrerer Indikatoren für die Hormonabhängigkeit 57
6.8.4. Molekulares Verhalten der Östrogenrezeptoren 58
6.8.5. Rezeptorkonzentration bei Karzinomen verschiedener histologischer Diagnosen 59
7. Diskussion 61
8. Zusammenfassung 63a
9. Literatur 64

1.0.0. Einleitung

Die Entwicklung von biologischen Methoden zum Nachweis spezifischer Hormonwirkung an Erfolgsorganen (3,28,73, 148), die Strukturaufklärung der Sexualsteroide (24, 25,32) und die Entwicklung analytischer Methoden zur Bestimmung der Hormonkonzentration im Urin und im Blutplasma (1,9,20,66,174) ermöglichten Untersuchungen, die die Abhängigkeit zwischen Hormonproduktion und morphologischen Veränderungen am Erfolgsorgan bestätigten (20,43,66,124,165).

Vorwiegend vergleichende Untersuchungen von Ovar und Endometrium haben das Verständnis für physiolgische Zusammenhänge geschaffen, und fanden Ausdruck in der Zykluslehre (103,144).

Übergeordnete endokrin-aktive Drüsen waren das Ziel weiterer Untersuchungen. Der Nachweis, daß die Tätigkeit der Ovarien von der Ausschüttung der Gonadotropine LH und FSH der Hypophyse abhängig ist (7,8,53, 54,71) und die Entdeckung hypothalamischer Areale, die wiederum die Funktion der Hypophyse durch die Gonadotropin-Releasing-Hormone beeinflussen, (44,139, 140) stellen die endokrine Funktion der Ovarien in einen Regulationskreislauf, in dem die einzelnen Glieder durch positive oder negative feed-back-Mechanismen gesteuert werden (15,30,87,106,142,166).

Bis jetzt ist das Hauptaugenmerk auf die Untersuchungen der verschiedenen Serumhormonspiegel, die Erkennung verschiedener Rückkopplungsmechanismen und die damit verbundene Hormonwirkung am Zielorgan gefallen.

Nach klassischer Vorstellung war die hormonelle Beeinflußung des Erfolgsorgans allein durch das Hormonangebot im Plasma gesteuert.

Durch den Einblick in den intrazellulären Wirkungsmechanismus wurde man auf eine eigenständige Regulationsmög-

lichkeit in der Zelle selbst aufmerksam: Die spezifischen cytoplasmatischen Rezeptoren ermöglichen nicht nur eine Selektion der angebotenen Steroidhormone, sondern regulieren auch die Quantität und somit den Umfang der Steroidwirkung.

2.0.0. Intrazellulärer Wirkungsmechanismus der Steroid-Hormone

2.1.0. Historische Entwicklung

EHRLICH postulierte schon zu Beginn des 19.Jahrhunderts die Existenz spezifischer Rezeptoren und wies auf deren Bedeutung für die selektive Wirkung von Substanzen in den Erfolgszellen hin (34).

Die experimentelle Bestätigung scheiterte jahrzehntelang am Fehlen analytischer Methoden.

Der Nachweis dieses möglichen Wirkungsprinzipes für Steroide gelang erst, als Hormone radioaktiv markiert werden konnten. Besonders der Uterus, der unter dem dualen Einfluß von Östrogenen und Gestagenen steht, war das bevorzugte Modell, um organbezogene hormonale Regulationsmechanismen darzustellen.

Glascock und Hoeckstra gelang 1959 die Tirtium-Markierung von Hexöstrol (39).

Jensen und Jakobson berichteten etwa zur gleichen Zeit auf dem internationalen Biochemiekongreß in Wien über die erfolgreiche Markierung von 17-ß-Östradiol mit Tritium (65). Der erste Nachweis einer intrazellulären Akkumulation der tritiummarkierten Östrogene erfolgte im Uterus und Vagina von infantilen Sprague-Dawley-Ratten nach Verabreichung des radioaktiven Hormons. Die meisten anderen Organe dieser Tiere wie Leber, Niere, Nebenniere, Ovar, Muskel, Knochen und Gehirn zeigten keine Inkorporationen. Die gleichen Versuchsergebnisse fand Jensen auch bei ovarektomierten Ratten (63,65).

1961 verabreichten Folca und Glascock an 10 Brustkrebspatientinnen zum Zeitpunkt der Adrenalektomie tritiummarkiertes Hexöstrol. Sechs Stunden später bestimmten

sie die Radioaktivität in verschiedenen Geweben. Bei vier Patientinnen, bei denen die Adrenalektomie eine Remission brachte, war das Verhältnis der Radioaktivität im Tumor zu der im Muskel höher, als bei den sechs anderen Frauen, die keine Remission zeigten (38).

Ein bestimmtes Protein im Cytoplasma als spezifischer Rezeptor für Östradiol konnte erstmals von Toft und Gorski aus dem Rattenuterus entdeckt werden (150). Der Nachweis erfolgte mit Hilfe der Sucrose-Dichte-Gradienten-Zentrifugation (155).

Jungblut und Jensen konnten zunächst im Kalbsuterus ein intrazelluläres, östrogenbindendes Protein für Östradiol nachweisen und charakterisieren. Sie nannten es Östrogenrezeptor (68,69).

Auch in mit 7,12-Dimethyl-Benzanthrazen induzierten Brusttumoren der Ratte wurden diese Östrogenrezeptoren gefunden.

Aufgrund dieser Ergebnisse und nach ersten klinischen Untersuchungen hatte Jensen die Vermutung, daß Tumoren, die auf eine Ovarektomie und Adrenalektomie eine Remission zeigten, Östrogen-Rezeptor-positiv seien. 1967 empfahl er daher erstmals die Bestimmung der Östrogenrezeptoren zur Auswahl derjenigen Patientinnen, die mit hoher Wahrscheinlichkeit auf eine Hormontherapie ansprechen sollten (60,64).

Folgende experimentelle Ergebnisse, die kurz chronologisch dargestellt werden, führten zur teilweisen Aufklärung des Wirkungsmechanismus der Steroide.

1. Nachweis der selektiven Anreicherung von radioaktiv markierten Sexualsteroiden in ihren Erfolgszellen (21,38,39,76,108,114,150).
2. Autoradiographischer Nachweis der Lokalisation von Sexualsteroiden im Cytoplasma und Kern (36,72, 102,129,152).

3. Nachweis von Makromolekülen, die Steroide binden.
(Zusammenfassende Darstellung: 22,27,58,61,157).
   a) Bestimmung des Molekulargewichtes (121)
   b) Charakterisierung der Protein-Natur der Rezeptoren
   c) Charakterisierung der Bindungseigenschaften
   (Affinität und Spezifität)
   d) Nachweis der Rezeptoren für verschiedene Klassen von Steroiden. (Östrogen-, Progesteron-, Androgen-, Glucocorticoid- und Mineralocorticoidrezeptoren) (26,37,47,57,92,115,118,118,158,167).
4. Translokation des cytoplasmatischen Hormon-Rezeptor-Komplexes in den Kern und Bindung an Chromatinbezirke (58,88,89,120,138,147)
5. Nachweis der Parallelität zwischen cytoplasmatischer Steroidbindung und der biologischen in vivo Aktivität des betreffenden Hormons (83, 135, 151,164)
6. Nachweis der Stimulation der Proteinbiosynthese via Hormonrezeptor-Wirkung (6,42,83,111)
7. Nachweis der Neusynthese spezifischer RNS unter dem Einfluß von Hormonen (23,105,112,113,146)
8. Isolation steroidspezifischer m-RNS und Translation derselben in spezifische Proteine (27,52)
9. Partielle Reindarstellung des Progesteron-Rezeptors aus dem Hühnereileiter und des Östradiol-Rezeptors aus dem Kalbsuterus (137,133,137,143)
10. Nachweis der Regulation der Rezeptor-Synthese durch Steroide (80,104,117,122)

2.2.0. Heutiger Stand des Wissens

Aufgrund der Ergebnisse wird folgender intrazellulärer Mechanismus angenommen:

Abb. 1 zeigt eine Übersicht über die wahrscheinliche Wechselwirkung eines Steroidhormons mit einer Zielzelle.

WAHRSCHEINLICHE WECHSELWIRKUNG EINES STEROIDHORMONS MIT EINER ZIELZELLE

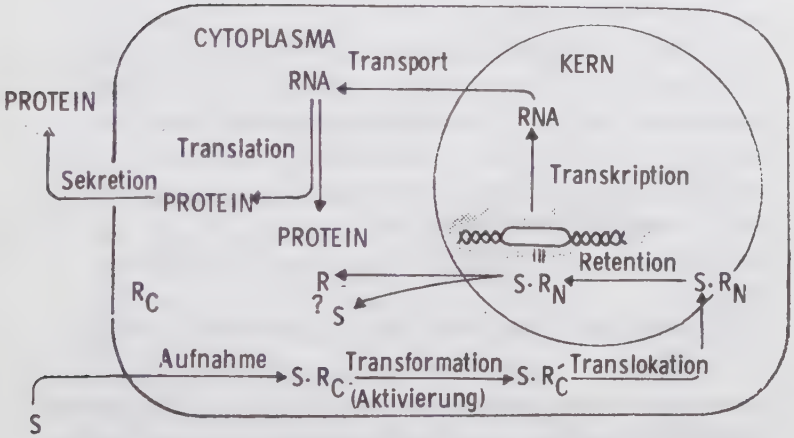


Abb.1
Das Steroid (S) dringt durch passive Diffusion in das Zellinnere. Hier wird es an den cytoplasmatischen Rezeptor (R) gebunden. Dieser Steroid-Rezeptor-Komplex (S R') wird nun aktiviert (Transformation) und in den Zellkern transportiert (Translokation).

Der Kern-Rezeptor-Komplex (S R') wird an das Chromatin gebunden und induziert die Synthese spezifischer RNS (Transkription). Die neu synthetisierten m-RNA Moleküle werden ins Cytoplasma transportiert, wo die Translation in spezifische Proteine und Enzyme stattfindet.

Folgende Einzelschritte sollen beschrieben werden:

1. Aufnahme des Steroids in die Zielzelle
2. Bindung an den cytoplasmatischen Rezeptor
3. Aktivierung des Steroid-Rezeptor-Komplexes und Erhöhung des Molekulargewichtes (Erhöhung des Sedimentationskoeffizienten)
4. Bindung an das Chromatingerüst (RNA-Synthese und Proteinsynthese)
6. Inaktivierung des Rezeptor-Komplexes

2.2.1. 1. Aufnahme des Steroids in die Zielzelle

Im gegenwärtigen Stand unseres Wissens wird allgemein angenommen, daß das freie nicht gebundene Steroidhormon durch passive Diffusion in die Zelle aufgenommen wird; obwohl in letzter Zeit (Harrison 45,46) auch ein aktiver Transport möglich erscheint.
Dieser Aufnahmemechanismus ist temperaturabhängig.

2.2.2. 2. Bindung des Steroids an den cytoplasmatischen Rezeptor

Eine wesentliche Eigenschaft einer für Steroid-Hormone empfindliche Zelle ist ihre Fähigkeit ein sogenanntes Steroid-Bindungs-Protein, den Rezeptor, zu synthetisieren. Der cytoplasmatische Rezeptor ist für die Selektion eines Hormons, welches in den Zellkern transprotiert werden soll, verantwortlich. Nur dieses spezielle Steroid wird mit hoher Affinität und Spezifität an den jeweiligen Rezeptor gebunden. Die Steroid-Bindungs-Proteine scheinen das Steroidmolekül an ihrer ß-Seite zu binden, während die Serum-Bindungs-Proteine Steroide an ihrer α-Seite binden. Der A-Ring und die Seitenkette am C-17 Atom des Steroids scheinen im Speziellen für die Spezifität der Bindung verantwortlich zu sein.

2.2.3. 3. Aktivierung des Steroid-Rezeptor-Komplexes

Der cytoplasmatische Steroid-Rezeptor-Komplex wird in einem temperaturabhängigen Prozeß in die "aktivierte" Form (SR') überführt.

Nur dieser transformierte Komplex kann in den Zellkern eindringen.

Die Aktivierung des Steroid-Rezeptor-Komplexes ist verbunden mit einer Erhöhung des Molekulargewichtes auf ca. das Doppelte. Dies äußert sich in einer Veränderung der Sedimentationskonstanten von ca. 4 S auf 5 S und kann mit Hilfe der Sucrose-Dichtegradienten-Zentrifugation nachgewiesen werden (104,121).

Der Schritt der Aktivierung wurde von Buller (22) im Hühnereileiter für den Östrogen-Rezeptor, von Notides (109) im menschlichen Gewebe für den Progesteron-Rezeptor genau beschrieben.

2.2.4. 4. Translokation in den Zellkern

Der aktivierte Hormon-Rezeptor-Komplex dringt vorwiegend durch passive Diffusion in den Zellkern und wird von dort an einen Akzeptor des Chromatins gebunden (51,77).

Für den Östradiol-Rezeptor-Komplex soll dieser Akzeptor DNS sein (51,79). Die treibende Kraft bei der Translokation ist das Konzentrationsgefälle zwischen Cytoplasma und Zellkern, die noch dadurch erhöht wird, daß der translozierte Rezeptor an das Chromatin gebunden wird und dadurch aus der Gleichgewichtsverteilung entfernt wird.

2.2.5. 5.Bindung an das Chromatingerüst (RNA-Synthese und Proteinsynthese)

Verschiedene Bestandteile des Zellkerns können für die Bindung des Rezeptor-Steroid-Komplexes verantwortlich sein:

a) DNA: Durch Behandlung von Zellkernen mit DNA-se gelang es, den Steroid-Rezeptor-Komplex aus dem Kern zu lösen (70,90,110).

Der aktivierte Steroid-Rezeptor-Komplex bindet sehr fest an die DNA. Dieser Effekt wird z.B. für den DNA-Cellulose-Assay genützt (Park et al 1978). Es ist aber noch nicht sicher, ob die Bindung an die DNA wirklich spezifisch ist, da der aktivierte Steroid-Rezeptor-Komplex auch an zweistrangige DNA, heterologe und homologe-Säuger-DNA, an bakterielle DNA, ja sogar an synthetische Desoxyadenylat-Desoxythymidylat-DNA bindet. Eine Bindung an RNA konnte nicht bewiesen werden (Yamamoto 1974, Rousseau 1974).

b) Kernproteine: Ein basisches Kernprotein konnte als Akzeptor des Steroid-Rezeptor-Komplexes isoliert werden (121).
Aufgrund der Extrahierbarkeit dieses Komplexes von Chromatin dürften ionische Wechselwirkungen eine wichtige Rolle bei der Bindung spielen. Es ist gegenwärtig aber noch nicht geklärt, ob die Bindung an basische Kernproteine oder an die DNA spezifisch ist.

2.2.6. 6. Inaktivierung des Steroid-Rezeptor-Komplexes

Über das weitere Schicksal des Rezeptor-Komplexes herrscht weitgehend Unklarheit.

Das Steroid wird zum Teil metabolisiert. Östradiol z.B. wird durch Estradiol-17-ß-Dehydrogenase zum weniger aktiven Östron dehydriert. Die Synthese diese metabolisierenden Enzyms wird in der zweiten Hälfte des menstruellen Cyclus durch den Effekt des Progesteron-Rezeptor-Komplexes stimuliert (40,159). Ebenso ist durch Pack und Brooks eine Sulfatisierung durch eine Sulfotransferase beschrieben worden. Weitere Einzelheiten über den Verbleib des Kern-Rezeptor-Komplexes stehen noch aus. Am einleuchtendsten wäre, daß er nach seiner Wirkung am Chromatin enzymatisch inaktiviert wird (19,116).

Die cytoplasmatischen Rezeptoren sind Voraussetzung für eine Steroidwirkung. Ihre Anwesenheit garantiert aber nicht den Ablauf aller in Abb. Nr. 1. dargestellten Ereignisse, ganz abgesehen davon, daß zur Zeit nicht alle Schritte eindeutig abgeklärt sind.

2.3.0. Eigenschaften des Rezeptors

2.3.1. 1. Bindungsaffinität zu Steroiden und Bindungskapazität

Hormonkonzentrationen im Blut liegen üblicherweise in einem Bereich von 10^{-10} - 10^{-8} Mol/l. Die Rezeptorkonzentration liegt ebenfalls in einem Bereich von 10^{-10} - 10^{-8} Mol/l. Um eine vernünftige Bindungsrate zu erhalten, muß die Affinität der Steroid-Rezeptor-Bindung sehr hoch sein. Tatsächlich werden Dissoziationskonstanten (K_D) zwischen 5.10^{-9} und 10^{-10} Mol/l gefunden. Geringe Bindungskapazität und hohe Affinität sind somit ein Charakteristikum der Steroid-Rezeptoren.

2.3.2. 2. Spezifität der Steroidbindung

Die Bindung des Steroids an den Rezeptor findet auch mit hoher Spezifität statt. Es ist bisher gelungen Rezeptoren für fünf verschiedene Klassen von Steroid-Hormonen nachzuweisen. Östrogen-,Progesteron-,Androgen-, Glucocorticoid- und Mineralocorticoid-Rezeptoren. Der Östrogenrezeptor bindet in der Reihenfolge Äthinyl-Östradiol> Estradiol-17-ß > DES > Östriol> Östron mit hoher Affinität. Progesteron, Testosteron, Cortison und Aldosteron und Östradiol 17-α zeigen sehr geringe Affinität (31).
Der Rezeptor ist also sehr wohl in der Lage, zwischen Östradiol 17-ß und Östradiol 17-α zu unterscheiden.

In gleicher Weise binden die Rezeptoren für die anderen Klassen die entsprechenden Hormone mit hoher Spezifität (153).

2.3.3. 3. Molekularer Aufbau

Steroid-Rezeptoren sind Makromoleküle mit unterschiedlichem Molekulargewicht, abhängig vom Milieu und der Temperatur.

Bei niederer Salzkonzentration und niederer Temperatur können sie in zwei verschiedenen Formen vorliegen, deren Sedimentationskonstante ~8S bzw. ~4S beträgt, das entspricht einem Molekulargewicht von ~60.000 und ~240.000.

Bei niederer Salzkonzentration und Temperaturen zwischen 25 und 27°C, werden beide Formen in einen 5 S Rezeptor (Molekulargewicht 120.000) überführt. Bei hoher Salzkonzentration liegt ausschließlich der 4 S Rezeptor vor.

Generell sind Steroid-Rezeptoren ellipsoide Proteine. Die Proteinnatur der Rezeptoren geht aus der Tatsache hervor, daß Rezeptoren durch Proteasen zerstört werden, nicht aber durch Ribonucleasen oder Des-oxy-ribonucleasen (108).

Der Progesteron-Rezeptor des Hühnereileiters konnte durch fraktionierte Proteolyse in Proteinfragmente bis zu einem Molekulargewicht von ~ 20.000 bei unveränderten Bindungseigenschaften zerlegt werden (104, 84,90,130,131).

Voraussetzung für eine hochaffine Bindung ist jedoch das Vorhandensein von Sulfhydrylgruppen.

2.3.4. 4. Stabilität der Rezeptoren

Wie schon erwähnt sind Rezeptoren instabil gegenüber proteolytischen Enzymen.

Zum Beispiel konnte durch Proteasehemmer der Abbau der 8S-Rezeptoren in den 4S-Rezeptor sowie der Verlust an Bindungskapazität im Cytosol verhindert werden. Die Stabilität ist ebenfalls temperaturabhängig. Ein rapider Abfall der Bindung bei Temperaturen von über 40°C ist zu beobachten. Selbst bei niederen Temperaturen um

0°C findet im Cytosol aber noch stärker in Gewebsproben eine Denaturierung des Rezeptors statt. Erst bei Temperaturen von -60°C bis -70°C bleibt die Rezeptoraktivität über einen langen Zeitraum (Wochen bis Monate) erhalten (63,64).

Der Steroid-Rezeptor-Komplex ist wesentlich stabiler als der freie Rezeptor. Im allgemeinen ist der Östrogen-Rezeptor stabiler als der Progesteron- oder Glucocorticoid-Rezeptor.

2.4.0. Regulation der Rezeptorsynthese durch Steroide

Am besten studiert wurden bisher die Regulation der Östrogen- und Progesteron-Rezeptor-Synthese durch Östrogene bzw. Gestagene.

1973 stellte Rao die Vermutung auf, daß die Synthese des Progesteron-Rezeptors von der Östrogenwirkung abhängig ist, die dann durch weitere Untersuchungen bestätigt wurde (104, 122, 80).

Nach der Gabe von Östradiol an kastrierte Meerschweinchen kam es zum drastischen Anstieg der Progesteron-Rezeptor-Konzentration im Uterus (117).

Derselbe Effekt wurde auch am menschlichen Endometrium nachgewiesen (33). Im Tierversuch konnte diese spezifische Östradiolwirkung durch einen RNA-Polymerase-Inhibitor verhindert werden (104).

Die Östrogen-Rezeptor-Synthese wird ebenfalls durch die Östrogene stimuliert. Während unter Östrogengabe das Cytoplasma durch die Translokation der Steroid-Rezeptor-Komplexe in den Zellkern an freien Rezeptoren verarmt, (Depletion) kommt es nach Absetzen der Östrogene zu einem drastischen Anstieg der Rezeptorkonzentration über den Ausgangswert während der nächsten 24 Stunden: offensichtlich ein Effekt einer erhöhten Syntheserate während des erhöhten Östrogenangebotes.

Progesteron wirkt als Östrogen-Antagonist, in dem es die Synthese von Östrogen- und Progesteron-Rezeptoren hemmt (122).

Aus diesen Tatsachen ergibt sich ein sehr wirkungsvoller intrazellulärer Regulationsmechanismus, der die Östrogen- und Gestagen-Wirkung steuert.

Neueste Ergebnisse weisen ebenfalls auf einen positiven Einfluß des Östrogens auf die Synthese der Androgen-Rezeptoren in der Prostata hin (Bartsch).

Antiöstrogene (z.B. Tamoxifen) wirken ebenfalls über den Östrogenrezeptor. Sie werden an den zytoplasmatischen Östrogen-Rezeptor gebunden und auch in den Kern transloziert. Dieser Komplex kann jedoch nicht zur Neusynthese der Östrogen-Rezeptoren anregen, wodurch eine Verarmung der Zelle an Östrogen-Rezeptoren fortlaufend eintritt. Die Zelle ist nicht mehr östorgensensibel (18).

3.0.0. Klinische Bedeutung der Rezeptoren beim Mammakarzinom

3.1.0. 1. Historische Entwicklung

Das Mammakarzinom gilt als hormonabhängiger Tumor. Von dieser Vorstellung leitet sich die endokrine Therapie des metastasierenden Mammakarzinoms ab.

Bereits 1889 - zu diesem Zeitpunkt waren die ovariellen Hormone noch nicht bekannt - hat Albert S. Schinzinger auf den Deutschen Chirurgen-Kongreß erstmals die beidseitige Ovarektomie empfohlen (141), diese unter der Vorstellung, daß bei alten Frauen der Verlauf eines Mammakarzinoms günstiger wäre, als bei jungen. Er selbst hatte in keinem Fall eines Mammakarzinoms eine Ovarektomie durchgeführt.

Beide Eierstöcke wurden zum ersten Mal 1896 einer Frau bei einem fortgeschrittenen metastasierenden Mammakarzinom durch Georg Thomas Beatson entfernt. Er berichtet über eine Remission von 48 Monaten bei einer 33-jährigen Frau (11). Die Ausschaltung des hormonellen Einflußes der Ovarien entweder durch operative Entfernung oder durch Röntgenstrahlen war seit der Jahrhundertwende die einzige Möglichkeit einer "hormonellen Therapie" bei metastasiertem Mammakarzinom. Simmer berichtet über die zum Teil aufregenden Behandlungserfolge (134).

Als mit der Zeit mehr über die hormonellen Wirkungsmechanismen bekannt wurde, führte Charles Huggins die zusätzliche Entfernung der Nebennieren ein (56). Anfang der 50iger Jahre empfahl Lindner sogar die Hypophysektomie. Auch K.H. Bauer trat für diese zusätzliche ablative Therapie ein (10).

Etwa zur gleichen Zeit begann mit der Herstellung synthetischer Steroide auch die additive Hormontherapie. Besonders die Gabe von pharmakologischen Dosen synthetisch hergestellter potenter Östrogene, sei es mit steroidalem Charakter (Äthinlyöstradiol, Östradiolben-

zoate) oder nicht steroidalem Charakter (z.B. Östrostilbene), aber auch von Androgenen fand Eingang in die Therapie des metastasierenden Mammakarzinoms. Die Remissionsraten bewegten sich bei allen additiven und ablativen Therapieformen um die "magische Zahl" von 30 %.

3.1.1. 2. Entwicklung der Rezeptorentheorie

Einen Fortschritt in der endokrinen Behandlung des metastasierenden Mammakarzinoms brachte die teilweise Aufklärung des intrazellulären Wirkungsmechanismus der Hormone in den 60iger Jahren.

Die Vorstellung über den Wirkungsmechanismus einer hormonellen Therapie war, daß offensichtlich gewisse Tumorzellen die Fähigkeit behalten haben, gleichermaßen auf Hormone anzusprechen, wie die nicht entarteten hormonsensitiven Zellen. Es besteht Grund zu der Annahme, daß mit fortschreitender Entdifferenzierung der malignen Zellen die Hormonsensitivität verloren geht.

Voraussetzung für eine Hormonansprechbarkeit des Tumors ist das Vorhandensein von Steroid-Hormon-Rezeptoren. Durch die Bestimmung der Rezeptoren war ein biochemischer Test gegeben, der eine Voraussage ermöglicht, ob das Tumorgewebe auf eine Hormontherapie ansprechen kann.

Als logische Folgerung empfahl Jensen 1967 die Bestimmung der Östrogen-Rezeptoren als Auswahlkriterium für die Hormon- bzw. Cytostatikatherapie (60).

3.2.0. 3. Ergebnisse der Östrogen-Rezeptor-Bestimmung

Östrogen-Rezeptor-positiv bedeutet, nach allgemeiner Übereinkunft, daß die Konzentration der Östrogenrezeptoren 10 fmol/mg Cytosolprotein im Cytoplasma überschreitet.

60-70 % eines nicht selektierten Kollektivs von Patientinnen mit primären Mammakarzinom sind Östrogen-Rezeptor-positiv (62, 94, 101, 170, 172).

Östrogen-Rezeptoren findet man im Mammakarzinomgewebe bei 30-40 % der Frauen der Praemenopause, bei etwa 50 % der Frauen, die sich um die Zeit der Menopause befinden, während bei 70 bis 80 % der Patientinnen nach der Menopause der Tumor Östrogen-Rezeptor-positiv ist (97).

Es besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen histologischem Malignitätsgrad und der Häufigkeit von Östrogen-Rezeptor-positiven Befunden in primären Mammatumoren:

Malignitätsgrad I	76 % ER-positiv
Malignitätsgrad II	63 % ER-positiv
Malignitätsgrad III	35 % ER-positiv (10,35,123)

Ebenso steht fest, daß ER-positive Tumoren im Verhalten gutartiger sind, was sich auch in der günstigeren Prognose äußert. Patientinnen mit ER-positiven Tumoren bekamen signifikant weniger häufiger Rezidive als solche die ER-negativ waren. Die Rezidivrate bei Patientinnen mit ER-negativen Tumoren ohne Lymphknotenbefall war gleich hoch als bei der Gesamtheit der Patientinnen mit Lymphknotenbefall; also signifikant höher als bei ER-positiven Patientinnen. Patientinnen mit besiedelten Lymphknoten und ER-negativen Tumoren haben die schlechteste Prognose, signifikant schlechter als alle anderen Gruppen unter den Frühstadien (29,95,136).

3.2.1. 4. Klinische Korrelation

Verschiedene Therapieformen (additive bzw. ablative Hormontherapie, Chemotherapie), die beim Östrogen-Rezeptor-positiven als auch beim Östrogen-Rezeptor-negativen Mammakarzinom durchgeführt wurden, lassen zusammenfassend folgende Aussage über ihre Wirksamkeit zu.

Das Mammakarzinom spricht in etwa 30 % auf Hormontherapie an, in ca. 50 % auf Chemotherapie (125,163). Kombinierte Hormon- und gleichzeitige Chemotherapie scheint die Remissionsrate zu erhöhen (48).

Aufsehen erregt die Arbeit von Lippman und Allegra, über den Zusammenhang zwischen dem Vorliegen von Östrogen-Rezeptoren und dem Ansprechen auf eine Chemotherapie. Sie fanden bei einem Östrogen-Rezeptorgehalt von über 10 f Mol/mg Protein nur eine Tumorregression von 12 % durch eine Chemotherapie, in 76 % der Fälle war diese Behandlung erfolgreich, wenn der Tumor Östrogen-Rezeptor-negativ war (2).

Maass und Jonat konnten diese Ergebnisse in allerdings abgeschwächter Form bestätigen. Dies würde bedeuten, daß durch die Östrogen-Rezeptor-Bestimmung ein Ansprechen auf eine Hormontherapie oder eine Cytostatikatherapie vorausgesagt werden kann (93).

King fand allerdings gleiche Remissionsraten für ER-positive und ER-negative Mammakarzinome, die eine Chemotherapie erhielten (55% : 66%) (75).

Völlig im Widerspruch zu Lippman und Allegra stehen die Ergebnisse von Bonadonna und von Maillot (16,95).

Durch Anti-Östrogen-Therapie wurde die Behandlung des Mammakarzinoms wesentlich bereichert. Sie ist als medikamentöse ablative Therapie zu betrachten. Sie hat sich als Therapie der Wahl bei Frauen nach der Menopause erwiesen. 64 % aller Mammakarzinome zeigen irgendeine Regression auf Tamoxifen (149). Stoll fand in 28 % über 50 % Remission (Voll- und Teilremission) 36 % weniger als 50 % Remission (no change) und 36 % keine Remission (Progressio). Allerdings zeigen 90 % aller Östrogen-Rezeptor-positiven Mammakarzinome Remission bzw. Teilremission oder unveränderten Zustand (no change) auf Tamoxifen. Je länger nach der Menopause umso höher die Responsrate. Ohne Untersuchung von Östrogen-Rezeptoren variiert die Remissionsrate zwischen 18% und 51% auf Tamoxifen (59).

3.3.0. Wege zur Verbesserung der Voraussage

Die Hormontherapie des Mammakarzinoms auf der Basis der Bestimmung der Östrogen-Rezeptoren bedeutet eine wesentliche Verbesserung in der Krebsbehandlung.

Doch muß man der Tatsache ins Auge blicken, daß nur 55 % der Östrogen-Rezeptor-positiven Mammakarzinome auf hormonelle Therapie ansprechen. Es gilt Wege zu finden, die hohe Zahl an "falsch positiven Ergebnissen" zu reduzieren.

Folgende zusätzliche Untersuchungen erscheinen erfolgversprechend.

3.3.1. 1. Zusätzliche Berücksichtigung der Rezeptor-Quantität

Es besteht eine Korrelation zwischen der Quantität der Östrogen-Rezeptoren im Cytoplasma und dem Erfolg einer Hormontherapie:

Bis 80 % der Tumoren, die hohe Rezeptor-Konzentration aufweisen (ER-rich carcinoma), sprechen nach Jensen auf eine Hormontherapie an (50,59).

3.3.2. 2. Zusätzliche Bestimmung des Progesteron-Rezeptors

Untersuchungen von Horwitz und Mc Guire ergaben, daß der Progesteron-Rezeptor im DMBA induzierten Brusttumoren der Ratte, unter dem Einfluß der Östrogene entsteht. Das Vorhandensein des Progesteron-Rezeptors sollte demnach auf einen intakten Östrogenwirkungsmechanismus hinweisen (55,14,100).

Die klinischen Ergebnisse untermauerten die Resultate aus dem Tierversuch.

Von Östrogen- und Progesteron-positiven Tumoren sprechen 77 % auf eine Hormontherapie an, während bei Östrogen-Rezeptor-negativen Tumoren die Responsrate nur 28 % beträgt. Von den Östrogen-Rezeptor-negativen und Progesteron-Rezeptor-positiven Tumoren sprachen immerhin 46 % an. Wenn kein Rezeptor gefunden wurde, war die Remissionrate lediglich 9 % (55,98,99).

3.3.3. 3. Zusätzlicher Nachweis des 8-S-Östrogen-Rezeptors

Nach der 1975 von Wittliff erstellten Hypothese ist ein Ansprechen von Mammakarzinomen auf eine Hormontherapie mit höherer Sicherheit zu erwarten, wenn auch der 8S-Rezeptor nachzuweisen ist. Die Autoren fanden 33 Remissionen bei 44 Patienten, die mit verschiedenen Arten von Hormontherapie behandelt wurden, wenn entweder ein 8S oder ein 8S und 4S Rezeptor Östrogen-Rezeptor nachzuweisen war (171,126,169). Die Bedeutung des 8S Rezeptors ist bisher noch unklar. Man findet ihn vorwiegend bei hoher Rezeptorkonzentration, woraus man schließen könnte, daß es sich um eine Speicherform des Östrogen-Rezeptors, oder um ein Agregat aus 4 S Rezeptoren handelt. Im Endometrium trat er unter Einfluß einer Östrogenmedikamentation auf. Man könnte daher auch annehmen, daß es sich um ein Primärprodukt der Rezeptorsynthese handelt, welches dann in die 4 S-Form überführt wird (168).

3.3.4. 4. Zusätzliche Bestimmung der Kern-Östrogen-Rezeptoren

Voraussetzung für die Östrogenwirkung in der Zelle ist eine Translokation in den Kern als Östrogen-Rezeptor-Komplex. Durch die Messung der Kern-Rezeptor-Konzentration kann bewiesen werden, daß das Östrogen am Ort seiner Wirkung, dem Chromatin, angelangt ist, und somit die weiteren Schritte der Steroidwirkung stattfinden können.

Leake fand bei 75 % der Kern-Rezeptor-positiven Tumoren auf Tamoxifen-Behandlung eine mindestens 6monatige Remission (86).

3.3.5. 5. Zusätzliche Bestimmung der Östrogenkonzentration im Kern

Aus dem unter Punkt 4 erwähnten Überlegungen sollte die Konzentration der Östrogene im Kern Aufschluß über das Ausmaß der Östrogenwirkung geben.

Mit diesem Problem beschäftigten sich besonders Wagner und Jungblut (160) und wiesen auf die Bedeutung der Östrogenbestimmung im Kern neben der Bestimmung der cytoplasmatischen Östrogen- und Progesteron-Rezeptoren hin.

Es sollte dadurch möglich sein, einen eventuellen Defekt im Östrogenwirkungsmechanismus zu lokalisieren. Klinische Ergebnisse stehen noch aus.

4.0.0. Methodik der Rezeptorbestimmung

4.1.0. I. Quantitative Bestimmung der Rezeptor-Bindungsstellen

Alle Methoden der Rezeptorbestimmung beruhen darauf, daß die Rezeptorstellen mit radioaktivem Steroid besetzt werden und aus der rezeptorgebundenen Radioaktivität auf die Zahl der Bindungsstellen geschlossen wird.

Die Anwendung radioaktiv markierter Steroide ist notwendig, da nur die Radioaktivität mit genügend hoher Empfindlichkeit gemessen werden kann.

In der Praxis wird so vorgegangen, daß das Cytosol (überlicherweise ein 105.000 g-Überstand), bzw. gereinigte Kerne, bzw. ein Kernextrakt mit steigenden Mengen (z.B. 1-8 nmol) tritiummarkierten (^{3}H) Steroiden inkubiert wird. Dabei kommt es zur Bildung des Komplexes aus ^{3}H-Steroid und Rezeptor, so wie der Bildung von unspezifischen Komplexen.

In einem Parallelansatz wird dem radioaktiven Liganden ein ca. 100-facher Überschuß an nicht markiertem Steroid (Inhibitor) zugegeben.

Dadurch werden ^{3}H-Steroide aus der Rezeptorbindung verdrängt, während durch die unspezifische Bindung, die charakterisiert ist durch hohe Kapazität und niedere Affinität, auch bei diesem Überschuß prozentuell gleichviel gebunden wird, wie ohne Überschuß.

Anschließend an die Inkubation muß das rezeptorgebundene Steroid vom freien Steroid getrennt werden.

Dazu geibt es folgende Möglichkeiten:

a) selektive Adsorption des freien Steroids an dextanbeschichtete Aktivkohle
b) Gelchromatographie
c) Ionenaustauscher-Chromatographie
d) Gel-Elektrophorese

e) Sucrose-Dichte-Gradienten-Zentrifugation
f) Bei Inkubation von Kernen brauchen diese nur durch Zentrifugation vom Inkubationspuffer getrennt werden
g) Dialyse
h) Praezipitation des Rezeptorkomplexes durch Salz-Lösung.

Die Radioaktivität der rezeptorgebundenen Fraktion wird in einem Flüssigkeitsscintillationszähler gemessen.

Für die quantitative Auswertung wird bei jeder Konzentration die Zählrate der unspezifischen Bindung von derjenigen der Gesamtbindung abgezogen. Dies ergibt die spezifisch gebundene Radioaktivität.

Die graphische Darstellung ergibt eine sogenannte Titrationskurve (siehe experimenteller Teil: Methodik), aus der ersichtlich ist, daß die spezifische Bindung schon bei relativ geringen Konzentrationen abzusättigen ist.
Die erhaltenen Werte für die spezifische Bindung werden überlicherweise nach der Methode von Scatchard transformiert (127), damit sie bei graphischer Auftragung eine Gerade ergeben.

Die Steigung der Geraden ist ein Maß für die Affinität der Bindung, der Schnittpunkt der Geraden mit der x-Achse gibt die Gesamtkonzentration an Rezeptoren an (siehe Experimenteller Teil: Methodik)

Um eine Kreuzreaktion der ^{3}H-Steroide mit anderen, als den zugehörigen Rezeptor, bzw. mit Plasmaproteinen zu vermeiden, werden statt der natürlichen Steroide oft synthetische Derivate mit ganz spezifischen Bindungseigenschaften als Liganden bzw. Inhibitoren verwendet.

Die Bestimmung der Östrogen-Rezeptoren wird überlicherweise mit ^{3}H-Östradiol als Liganden und Diäthylstilböstrol (DES) als Inhibitor durchgeführt (Rhombauts 1973).

Die Bestimmung des Progesteron-Rezeptors wird meistens mit ^{3}H-R 5020 (Promegeston) als Liganden und mit

R 5020 als Inhibitor durchgeführt (118).

Dexamethason dient sowohl als Ligand als auch als Inhibitor für die Bestimmung des Glucocorticoid-Rezeptors.

R 1881 (Methyl-trienolon) wird häufig als Ligand und Inhibitor bei der Bestimmung der Androgen-Rezeptoren angewendet.

Die angeführten synthetischen Steroide zeigen durchwegs nur geringe Affinität zu den steroidbindenden Plasma-Proteinen, die trotz aller Sorgfalt im Cytosol vorhanden sind.

4.2.0. II.Trennung und Charakterisierung der verschiedenen molekularen Formen

Für die Trennung der verschiedenen molekularen Formen und deren Charakterisierung stehen folgende Methoden zur Verfügung.

a) Sucrose-Dichte-Gradienten-Zentrifugation

Diese erlaubt die Bestimmung der Sedimentationskonstante und somit einen Rückschluß auf das Molekulargewicht.

b) Gelchromatographie

Sie dient zur Trennung der Rezeptorspezies, sowie zur Bestimmung des Molekulargewichtes als auch der molekularen Form.

c) Gel-Elektrophorese

Sie ermöglicht die Trennung der Rezeptorspezies aufgrund der verschiedenen elektrischen Gesamtladung des Moleküls.

d) Ionen-Austauscher-Chromatographie

Die verschiedenen molekularen Formen werden dabei aufgrund ihrer Ladungseigenschaften getrennt.

e) Isoelektrische Fokusierung

Die Trennung erfolgt hierbei aufgrund des verschiedenen isoelektrischen pH.

5.0.0. Material und Methoden

1. Gewebe

Folgendes Gewebe wurde untersucht:

a) Mammakarzinom verschiedener histologischer Diagnosen.

Die Gewebsstücke wurden weitgehendst von Blut, Fett und Bindegewebe durch den Operateur gesäubert und sofort in flüssigem Stickstoff schockgefroren.

Bis zur weiteren Aufarbeitung wurden die Gewebsstücke bei $-75^{\circ}C$ gelagert.

Representative Gewebesstücke wurden zuvor vom Operateur zur histologischen Untersuchung eingesandt.[+)]

[+)] Die histologische Untersuchung wurde freundlicherweise durch das Pathologisch-Anatomische Institut der Universität Innsbruck, Vorstand Prof.Dr.A.Probst, durchgeführt.

5.1.0. Herstellung des Cytosols

Die Gewebsstücke wurden mit der Schere zerkleinert.

In einem Homogenisiergefäß wurde zu den Gewebsschnitzeln die 5 - 8fache Menge (Gewicht/Volumen) kalter Homogenisierpuffer (TEM-Puffer, 10 mMol Tris-HCl, 1,5 mMol EDTA und 5 mMol Monothioglycerol, ph 7,4) zugegeben.

Homogenisiert wurde mit einem Ultra Turrax. Die Homogenisiergefäße wurden in einem Eisbad gekühlt.

Das Homogenat wurde mit einer Pasteur-Pipette in Zentrifugenröhrchen überführt, und 30 Minuten bei 40.000 Umdrehungen in einem Festwinkelrotor zentrifugiert.

Nach Zentrifugation des Homogenates wurde das Cytosol unterhalb der festen Fettschicht mit einer Pasteur-Pipette abgehoben.

Alle Schritte wurden bei 0-4°C durchgeführt.

5.2.0. Bestimmung von Konzentrationen von Östrogen- und Progesteron-Rezeptoren

5.2.1. A) DCC-Assay

Der DCC-Assay (Dextran-coated charcoal = Dextranbeschichtete Aktivkohle) wurde von Korenman 1968 beschrieben (81) und von Gardner und Wittliff 1973 modifiziert.

Ansteigende Mengen an tritiummarkiertem Steroid wurden in Glasröhrchen vorgelegt (Doppelbestimmung). Für die Bestimmung der Östrogen-Rezeptoren wurde ^{3}H-Östradiol-17ß in den Konzentrationen 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 nMol/l verwendet, für die Bestimmung der Progesteron-Rezeptoren 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 nMol ^{3}H-R 5020.

Zur Bestimmung der unspezifischen Bindung wurde zu den ^{3}H-Steroiden ein 200facher Überschuß eines unmarkierten Inhibitors zugegeben (für Östrogen-Rezepto-

ren DES, für Progesteron-Rezeptoren R 5020).

Dann wurden jedem Röhrchen 0,2 ml Cytosol zugefügt. Die Röhrchen wurden geschüttelt und bei 4°C über Nacht inkubiert. Anschließend wurden 0,5 ml einer DCC-Suspension (1% Norit A, 0,05 % Dextran in TE Puffer, pH 7,4) zu jedem Röhrchen zugegeben, 10 Minuten in der Kälte geschüttelt, und danach 10 Minunten bei 3.000 Umdrehungen in einer Kühlzentrifuge zentrifugiert.

Ein Aliquot (0,5ml) des Überstandes wurde abgehoben und in ein Plastik-vial übergeführt. Nach der Zugabe von 7 ml Scintillations-Cocktail (8g PPO, 0,2g Diemethyl POPOP, 0,5 l Triton X 100, 1 L Toluol) wurden die Vials verschlossen, geschüttelt, unddie Radioaktivität in einem Scintillationszähler gemessen. Die Zählausbeute wurde durch Meßung des externen Standard-Kanal-Verhältnisses bestimmt.

5.2.2. B) Auswertung der Ergebnisse

Trägt man die Menge der gesamt zugegebenen Radioaktivität gegen die gemessene Radioaktivität auf, so erhält man eine Titrationskurve.

Zur Bestimmung der Gleichgewichtskonstanten wird der Anzahl der Bindungsstellen folgender Ansatz nach Scatchard dienen:

$$S + R \rightleftharpoons SR$$

S = Steroid

R = Rezeptorprotein

$$K = \frac{[SR]}{[S \cdot R]} = \frac{[SR]}{[S] \cdot [(R)_0 - (SR)]}$$

Wenn $\frac{SR}{S}$ gegen (SR) aufgetragen wird, sollte sich eine Gerade ergeben, deren Steigung gleich der Gleichgewichtskonstanten K und deren Abzissenabstand gleich der Anzahl der Bindungsstellen ist.

Die Rezeptorkonzentration wird bezogen auf den Proteingehalt im Cytosol, als Einheit dient f Mol/mg Protein (1 f Mol = 10^{-15} Mol).

Die Proteinkonzentrationen wurden nach der Methode von Waddell bestimmt (162).

Für die Scatchard-Plot-Analyse wurde ein Computer-Programm für einen HP-9815 verwendet (45).

5.3.0. 4. Bestimmung der Sedimentationskoeffizienten für die Östrogenrezeptoren

Der Sedimentationskoeffizient S hat einen charakteristischen Wert für jedes Protein und ist durch folgende Gleichung gegeben:

$$S = \frac{dx/dt}{w^2 x}$$

x = Abstand vom Rotationszentrum in cm
t = Zeit in sec
w = Winkelgeschwindigkeit
S = Sedimentationskoeffizient (10^{-13} sec)

Das Cytosol wurde wie oben beschrieben hergestellt.

Zur Bestimmung des Sedimentationskoeffizienten von Proteinen bedienten wir uns der Sucrose-Dichte-Gradienten-Zentrifugation.

Für Gesamtbindung wurden 8 nMol ^{3}H-Östradiol zusammen mit 0,5 ml Cytosol bei 0 - 4^{o}C inkubiert, für die Bestimmung der unspezifischen Bindung wurden 8 nMol Östradiol und ein 200facher Überschuß DES mit 0,5 ml Cytosol inkubiert.

Nach einer Inkubationszeit von 6 Stunden bei 0 bis 4°C wurde das freie Steroid mit DCC entfernt und 0,2 ml Cytosol wurden auf linearen Sucrose-Gradienten (5 - 20 % Gewicht/Volumen) aufgelegt.

Die Gradienten wurden bei 4°C mit 45.000 UpM in einen SW60 Ausschwing-Rotor 12 Stunden zentrifugiert. Die Gradienten wurden durch Anstechen mit einer Nadel von unten in 25 Fraktionen aufgeteilt und deren Radioaktivität gemessen.

Die CPM-Werte wurden gegen die verschiedenen T-Fraktionsnummern aufgetragen.

Zur Standardisierung wurden Standardproteinlösungen unter den gleichen Bedingungen zentrifugiert. Als Standardproteine mit bekannten Sedimentationskoeffizienten dienten Myoglobin (2S) Ovalbumin (3,6S), Albumin (4,6S) und ein - Globulin (7,1S).

Nach der Zentrifugation unter Fraktionierung des Gradienten wurde Extinktion der einzelnen Fraktionen bestimmt und jene Fraktion, die das Absorptionsmaximum enthielt, gegen den Sedimentationskoeffizienten aufgetragen.

Aus der resultierenden Eichgeraden kann der Sedimentationskoeffizient einer unbekannten Probe ermittelt werden.

6.0.0.0. Ergebnisse

Es kamen insgesamt 316 Gewebe von Mammatumoren unterschiedlicher Histologie zur Untersuchung.

Die folgende Tabelle gibt Aufschluß über die verschiedenen histologischen Diagnosen:

I	Lobuläres Karzinom	n = 5	(2%)
II	Ductales Karzinom	n = 262	(97%)
A:	non invasiv	n = 2	(1%)
B:	mit produktiver Fibrose	n = 144	(53%)
C:	solide Karzinome	n = 72	(26,5%)
D:	adenoide Karzinome	n = 27	10%)
E:	mucinöse Karzinome	n = 6	(2%)
F:	Comedo-Karzinome	n = 11	(4%)
III	Morbus Paget	n = 2	(1%)
IV	Sarcom	n = 1	(0,5%)
	Gesamtzahl der Primärkrebse	n = 270	= 100 %
V	Metastasen	n = 22	
VI	Gutartige Veränderungen und normales Mammagewebe	n = 24	
	Gesamtzahl der untersuchten Mammatumore	n = 316	

Abb.2

6.0.1.0. Stadienverteilung

Die Beurteilung der Ergebnisse setzt eine Einteilung in vergleichbaren Tumorstadien voraus.

Da unsere Erhebungen rückwirkend durchgeführt wurden und das Karzinomgewebe durch verschiedene Operateure verschiedener Krankenhäuser gewonnen wurde, war es nicht möglich nach einer einheitlichen Tumorklassifikation die Einteilung vorzunehmen. Da in unserem Einzugsgebiet am häufigsten zur Tumorklassifkation das Schema nach Columbia gebraucht wird, war es retrospektiv nur möglich, die Einteilung nach diesem klinisch orientierten Schema vorzunehmen.

		Gesamt	St.A	St.B	St.C	St.D
I	Lobuläres Ca	5	2	3	-	-
II	Ductales Ca	262	89	101	30	42
a)	non invasives Ca	2	2	-	-	-
b)	mit produktiv.Fibr.	144	43	61	17	23
c)	solide Ca	72	25	25	9	13
d)	adenoide Ca	27	8	13	2	4
e)	mucinöse Ca	6	5	1	-	-
f)	Comedo Ca	11	6	1	2	2
III	Morbus Paget	2	2	-	-	-
IV	Sarcome	1	-	-	-	-
	Gesamt	270	93 (43%)	104 (39%)	30 (11%)	43 (16%)

Abb.3
Stadieneinteilung beim Mammakarzinom unterschiedlicher histologischer Diagnosen.

Wie aus der Abb. 3 ersichtlich, untersuchten wir von den gesamten 270 Karzinomgeweben 93 (43%) im Stadium A, 104 (39%) im Stadium B, 30 (11%) im Stadium C und 43 (16%) im Stadium D.

6.0.2.0. Altersverteilung der Mammakarzinompatientinnen

Das Durchschnittsalter der Patientinnen, deren Gewebe zur Untersuchung kam betrug 61 Jahre. Die jüngste Patientin war 30 Jahre, die älteste 89 Jahre. Die nachstehende Tabelle zeigt die Altersverteilung bei den verschiedenen histologischen Diagnosen. Es finden sich keine signifikanten Unterschiede.(Abb.7)

	Durchschn.-alter	St.A	St.B	St.C	St.D
I Lobuläres Ca	54	50	56	-	-
II Ductale Ca					
a) non invasiv	51	51	-	-	-
b) mit produktiv.Fibr.	61	60	59	66	61
c) solide Ca	61	60	59	66	66
d) adenoide Ca	62	63	61	70	55
e) mucinöse Ca	70	69	74	-	-
f) Comedo Ca	53	48	52	63	61
III Morbus Paget	75	75	-	-	-
IV Sarcome	56	-	-	-	56
Gesamt	61	60	59	66	62

Abb. 4

Vorkommen des Mammakarzinoms in Abhängigkeit von der Menopause und verschiedener histologischer Diagnosen.

	Gesamt-zahl	v.d.Meno-pause	n.d.Meno-pause	Postme-nopause
I Lobuläres Ca	5	2	1	2
II Ductale Ca	262	53	44	165
a) non invasives Ca	2	1	0	1
b) mit produkt.Firbr.	144	29	27	88
c) solide Ca	72	13	13	46
d) adenoide Ca	27	5	1	21
e) mucinöse Ca	6	1	0	5
f) Comedo Ca	11	4	3	4
III Morbus Paget	2	0	0	2
IV Sarcome	1	0	0	1
Gesamt	270 (100%)	55 (20%)	45 (17%)	170 (63%)

Abb.5

Da eine Unterscheidung von denjenigen Patientinnen getroffen werden muß, deren Ovarien sicherlich keine endokrine Aktivität mehr zeigen, wurden in der Gruppe Postmenopause diejenigen Patientinnen eingeordnet, deren Menopause mindestens 5 Jahre zurücklag. In dieser Gruppe befinden sich 170 Patientinnen (63%). In der Zwischengruppe von der Menopause bis fünf Jahre danach befinden sich 45 Patientinnen (17%). In der Tabelle 5 sind die Patientinnen in die Gruppen vor der Menopause und nach der Menopause bis 5 Jahre und Postmenopause gesondert eingetragen und den verschiedenen histologischen Diagnosen zugordnet.

6.2.0.0. Lobuläre Karzinome

Es kamen 5 Gewebe der histologischen Diagnose "lobuläres Karzinom" der Mamma zur Untersuchung. 2mal entstammte das Gewebe einem Karzinom im klinischen Stadium A nach Columbia, 3mal im klinischen Stadium B.

6.2.1.0. Vorkommen von Östrogen- und Progesteronrezeptoren

In 4 von 5 Fällen wurden ER-Konzentrationen von $\geqslant$10 f Mol gemessen, in 3 Fällen waren die Konzentrationen $\geqslant$ 50 f Mol.

In allen 5 Fällen war die PgR-Konzentration $\geqslant$ 25 f Mol. Dementsprechend waren in 4 Fällen sowohl ER $\geqslant$ 10 f Mol und PgR $\geqslant$ 25 f Mol vorhanden. In 3 Fällen lag die ER-Konzentration $\geqslant$ 50 f Mol, die PgR-Konzentration $\geqslant$ 25 f Mol.

Ein 8 S ER wurde nicht bestimmt.

ER $\geqslant$ 10	4
ER $\geqslant$ 50	3
PgR $\geqslant$ 10	5
ER $\geqslant$ 25	5
ER $\geqslant$ 10 + PgR $\geqslant$ 10	4
ER $\geqslant$ 10 + PgR $\geqslant$ 25	4
ER $\geqslant$ 50 + PgR $\geqslant$ 25	3

Abb. 6

2 Patientinnen befanden sich vor der Menopause, in einem Fall ist die ER-Konzentration $\geqslant$ 50 f Mol. Bei beiden Fällen in der Postmenopause ist die ER-Konzentration $\geqslant$ 50 f Mol (Abb. 7).

	Gesamt	ER $\geqslant$ 10	ER $\geqslant$ 50
Vor der Menopause	2	1	1
nach der Menopause bis 5a	1	1	0
Postmenopause	2	2	2
Gesamt	5	4	2

Abb. 7

6.3.0.0. Ductale Karzinome

Aus der Gruppe mit der histologischen Diagnose "Milchgangskarzinom" wurden insgesamt 262 Gewebeproben untersucht. Folgende Untergruppen konnten der histologischen Diagnose nach gebildet werden.

6.3.1.0. Nicht invasive Milchgangskarzinome

2 Gewebesproben nicht invasiver Milchgangskarzinome wurden untersucht, beide Gewebeanteile enthielten weder einen ER noch ein PgR.

6.3.2.0. Infiltrierende Milchgangsgeschwülste mit produktiver Fibrose

Histologisch handelt es sich bei diesen 144 Fällen um sogenannte szirrhöse Karzinome.

6.3.2.1. Alterverteilung

Die jüngste Patientin ist 30 Jahre, die älteste 90 Jahre alt. Das Durchschnittsalter beträgt 61 Jahre.

6.3.2.2. Stadienverteilung

Von den 144 untersuchten szirrhösen Karzinomen entstammen 43 (30%) von Tumoren im klinischen Stadium A nach Columbia, 61 (42%) im klinischen Stadium B, 17 (12%) im Stadium C und 23 (16%) im Stadium D.

Wie aus der Abbildung 8 zu entnehmen ist, befanden sich 29 Patientinnen vor der Menopause (20%) und in der Postmenopause 88 Patientinnen (61%).

	Gesamt	St.A	St.B	St.C	St.D
vor der Menop.	29(20%)	10	14	3	2
nach der Menop. 5a	27(19%)	6	13	1	7
Postmenopause	88(61%)	27	34	13	14
Gesamt	144(100%)	43(30%)	61(42%)	17(12%)	23(16%)

Abb. 8

6.3.2.3. Vorkommen von Östrogenrezeptoren

In den 144 untersuchten Geweben wurden in 109 Fällen (76%) ER-Konzentrationen $\geqslant$ 10 f Mol gefunden. ER-Konzentrationen $\geqslant$ 50 f Mol waren in 73 Fällen (51 %) nachweisbar (Abb. 9).

Keine ER enthielten 35 Fälle (24%).

	Gesamt	St.A n=43	St.B n=61	St.C n=17	St.D n=23
$<$ 10	35 24%	7 16%	17 28%	5 29%	6 26%
$\geqslant$ 10	109 76%	36 84%	44 72%	12 71%	17 74%
$\geqslant$ 25	94 65%	32 74%	36 59%	10 59%	16 69%
$\geqslant$ 50	73 51%	14 58%	27 44%	8 47%	13 57%
$\geqslant$100	43 30%	11 26%	17 28%	6 35%	9 39%
$>$500	5 3%	2 5%	2 3%	1 6%	0

Abb.9

Ordnet man die verschiedenen ER-Konzentrationen den verschiedenen Tumorstadien zu, so zeigt sich, daß lediglich im Stadium A mit 16 % der geringste Anteil an Östrogen-negativen Tumoren vorhanden ist. Bei den übrigen Stadien zeigt sich kein Unterschied. Hier ist der Anteil der Östrogen-negativen Tumoren etwa doppelt so hoch (ca.30%). Vergleicht man nun die Rezeptorkonzentration der ER-positiven Tumoren,so ergibt sich ein völlig identisches Verteilungsmuster. Ca. 70 % der Tumoren haben ER-Konzentrationen $\geqslant$ 10 f Mol. Ca. 45 % $>$ 50 f Mol.

In den Geweben, die von Frauen in der Praemenopause stammen, findet man in 69 % ER $\geqslant$ 10 f Mol. Auffällig ist der geringe Gehalt an hohen ER-Konzentrationen. Lediglich 17% der Gewebe enthalten ER $\geqslant$ 50 f Mol. Im Gegensatz dazu sind in der Postmenopause 78% der Tumoren ER-positiv, 62 % zeigen sogar hohe Konzentrationen von $\geqslant$ 50 f Mol (Abb. 10).

	Gesamt	ER $\geqslant$ 10	ER $\geqslant$ 50
vor der Menopause	29	20 69%	5 17%
nach der Menopause $\leqslant$ 5 a	27	21 78%	14 52%
Postmenopause	88	69 78%	55 62%

Abb. 10

6.3.2.4. Vorkommen von Progesteronrezeptoren beim ductalen Mammakarzinom mit produktiver Fibrose

PgR ⩾ 10 f Mol enthielten 80 Gewebe (56%). Konzentrationen von ⩾ 25 f Mol waren 44 % vorhanden, während 64 Gewebe (44%) keine PgR enthielten.
(Abb. 11)
In den verschiedenen klinischen Stadien ergibt die PgR-Konzentration folgendes Bild:
Im klinischen Stadium A sind 33% der Tumoren PgR-negativ während sie im Stadium B und C 52 % betragen. Im Stadium D enthalten 39% keine PgR.

	Gesamt n=144	St.A n=43	St.B n=61	St.C n=17	St.D n=23
< 10	64 44%	14 33%	32 52%	9 52%	9 39%
⩾10	80 56%	29 67%	29 48%	8 47%	14 61%
⩾25	64 44%	24 56%	23 37%	5 29%	12 52%
⩾50	48 33%	18 41%	16 26%	5 29%	9 39%
⩾100	28 19%	9 21%	11 18%	3 18%	5 21%
⩾500	2 1%	0	1 2%	0	1 4%

Abb. 11

Vergleicht man die PgR-Konzentrationen im Bereich von ⩾ 10 f Mol, so zeigt sich in allen 4 Stadien ein nahezu gleiches Verteilungsbild. Die Tumoren unterscheiden sich lediglich dadurch, daß sie verschieden hohe Anteile an PgR-negativen Gewebe aufwiesen. Aufgrund der Höhe der Rezeptor-Konzentration, ist keine Unterscheidung zu treffen.

6.3.2.5. Gleichzeitiges Vorkommen mehrerer Indikatoren für die Hormonabhängigkeit

In 71 Geweben (49%) waren sowohl ER als auch PgR ≥ 10 f Mol vorhanden, in 59 Fällen 41% waren Konzentrationen von ER ≥ 10 f Mol, die PgR-Konzentration ≥ 25 f Mol. Konzentrationen von ER ≥ 50 und PgR 25 f Mol waren in 43 (30%) nachweisbar. 26 der 144 untersuchten Gewebe (18%) enthielten weder ER noch PgR. ER-negativ + PgR ≥ 10 f Mol in 4 Fällen (3%), ER-negativ + PgR ≥ 25 f Mol in 5 Fällen (3%) und ER ≥ 10 f Mol aber kein PgR nachweisbar in 38 Fällen (26%). (Abb. 12)

	Gesamt	St.A	St.B	St.C	St.D
ER ≥ 10	109(76%)	36	44	12	17
ER ≥ 50	73(51%)	25	27	8	13
PgR ≥ 10	80(56%)	29	29	8	14
PgR ≥ 25	64(44%)	24	23	5	12
8S ER	26/58(45%)	8/17	7/21	4/9	7/11
ER ≥ 10 + PgR ≥ 10	71(49%)	27	26	6	12
ER ≥ 10 + PgR ≥ 25	59(41%)	22	22	5	10
ER ≥ 50 + PgR ≥ 25	43(30%)	17	13	5	8
8S ER + PgR ≥ 10	18(31%)	6	4	3	5
8S ER + PgR ≥ 25	15(25%)	5	3	2	5
ER ≥ 50 + PgR ≥ 25 + 8S ER	24(24%)	5	2	2	5
ER neg. PgR neg.	26(18%)	5	14	3	4
ER neg. PgR ≥ 10	4(3%)	-	2	2	-
ER neg. PgR ≥ 25	5(3%)	2	1	0	2
ER ≥ 10 PgR neg.	38(26%)	9	18	6	5

Abb. 12

6.3.2.6. Molekulares Verhalten der Östrogen-Rezeptoren (8S ER)

In 58 Fällen wurde der Sedimentationskoeffizient ermittelt. 26mal wurde ein 8S ER gefunden. In 8 Fällen, in denen ein 8S ER gefunden wurde, waren lediglich ER nachweisbar. In 18 Fällen (31%) war zusätzlich die PgR-Konzentration $\geqslant$ 10 f Mol. In 15 Fällen (25%) war die PgR-Konzentration $\geqslant$ 25 F Mol.

ER $\geqslant$ 50 und PgR $\geqslant$ 25 und gleichzeitig ein 8S ER war in 14 (24%) Fällen vorhanden (Abb.12) .

Abb. 13 zeigt die Rezeptorkonzentration der Östrogen- und Progesteron-Rezeptoren beim ductalen Karzinom der Mamma mit produktiver Fibrose (Szirrhus) aufgeteilt auf die verschiedenen Tumorstadien.

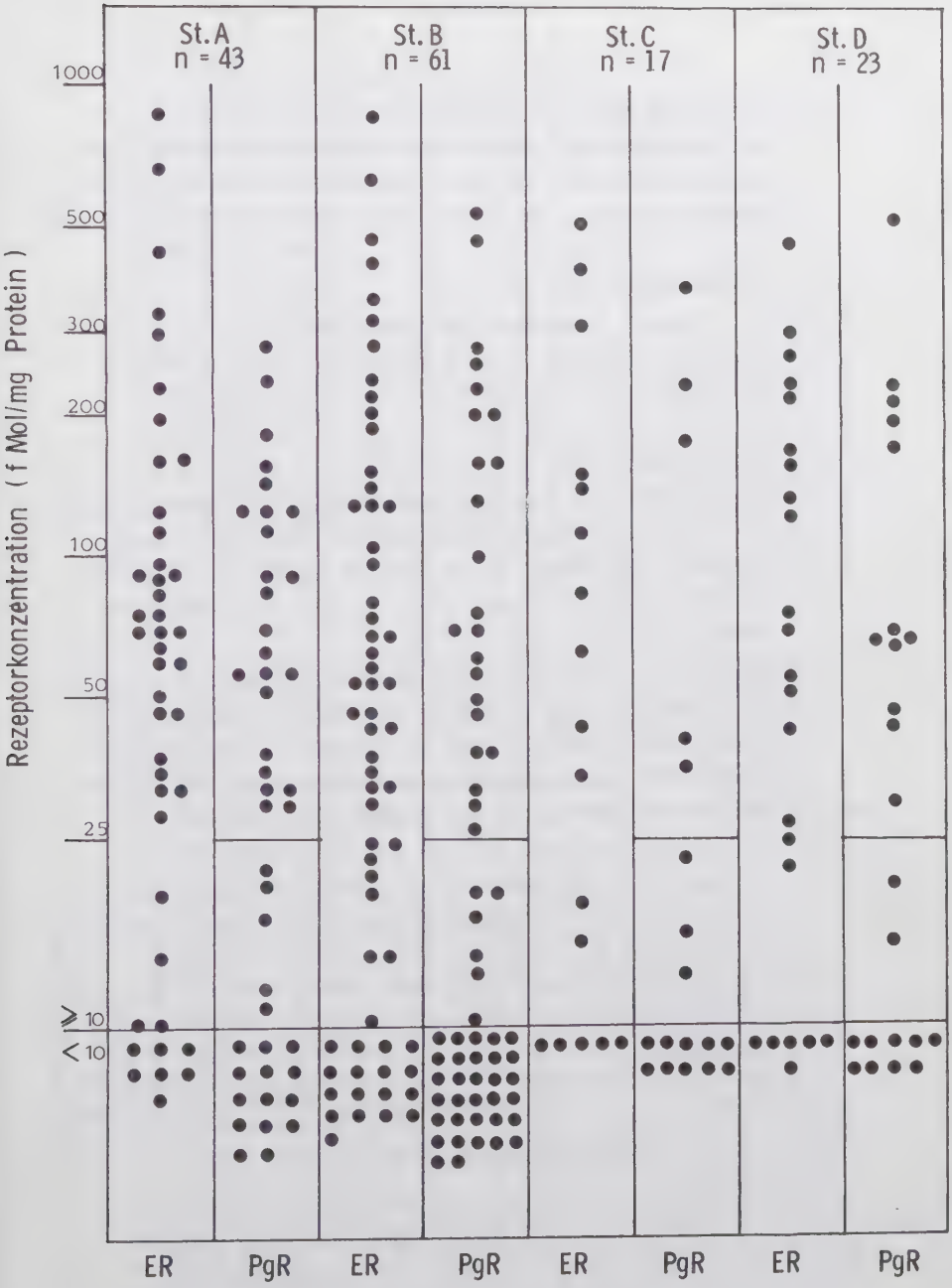


Abb. 13 Östrogen- und Progesteronrezeptoren beim ductalen Karzinom der Mamma mit produktiver Fibrose (Szirrhus)

6.3.3.0. Carcinoma soldium simplex

72 Gewebsproben wurden untersucht bei denen es sich histologisch um ein Carcinoma solidum simplex der Mamma handelt.

6.3.3.1. Altersverteilung

Die jüngste operierte Patientin war 34 Jahre, die älteste 88 Jahre. Das Durchschnittsalter beträgt 61 Jahre.

6.3.3.2. Stadienverteilung

Von den 72 untersuchten soliden Karzinomen entstammen 25 (35%) von Tumoren im klinischen Stadium A nach Columbia, 25 (35%) im klinischen Stadium B, 9 (12%) im klinischen Stadium C und 13 (18%) im klinischen Stadium D. (Abb. 14)

Wie aus der der Abbildung 14 zu entnehmen ist, befanden sich zum Zeitpunkt der Operation 13 Patientinnen (18%) vor der Menopause, 13 Patientinnen (18%) nach der Menopause bis einschließlich 5 Jahre und in der Postmenopause 46 Patientinnen (64%).

	Gesamt	St.A	St.B	St.C	St.D
vor der Menopause	13(18%)	5	6	1	1
nach der Menopause bis 5a	13(18%)	6	4	2	1
Postmenopause	46(104%)	14	15	6	11
Gesamt	72(100%)	25(35%)	25(35%)	9(12%)	13(18%)

Abb. 14

6.3.3.3. Vorkommen von Östrogenrezeptoren

In den 72 untersuchten Geweben wurden in 41 Fällen (57%) ER-Konzentrationen $\geqslant$ 10 f Mol gefunden. ER-Konzentrationen $\geqslant$ 50 f Mol waren in 23 Fällen (32%) nachweisbar. Keine ER enthielten 31 Fälle (43%). (Abb.15)

	Gesamt n=72	St.A n=25	St.B n=25	St.C n=9	St.D n=13
$<$ 10	31 43%	11 44%	10 40%	3 33%	7 54%
$\geqslant$ 10	41 57%	14 56%	15 60%	6 67%	6 46%
$\geqslant$ 25	30 42%	11 44%	12 48%	3 33%	4 31%
$\geqslant$ 50	23 32%	7 28%	9 36%	3 33%	4 31%
$\geqslant$ 100	18 25%	5 20%	8 32%	3 33%	2 15%
$\geqslant$ 500	3 4%	2 8%	1 4%	0	0

Abb.15

Ordnet man die verschiedenen ER-Konzentrationen den verschiedenen Tumorstadien zu, so zeigt sich kein wesentlicher Unterschied in den einzelnen Stadien.

Vergleicht man die Rezeptor-Konzentrationen der ER-positiven Tumoren, ist das Verteilungsmuster nahezu identisch. Ca. 60% der Tumoren haben ein ER-Konzentrationen $\geqslant$ 10 f Mol, ca. 30 % $\geqslant$ 50 f Mol. Bei den Geweben , die von Frauen in der Praemenopause stammen, findet man in 31% ER $\geqslant$ 10 f Mol. Nur 23% der Gewebe enthalten Konzentrationen $>$ 50 f Mol. In der Postmenopause enthalten 32 Gewebe (70%) ER-Konzentrationen $>$ 10 f Mol. In 41 % wurden hohe Konzentrationen von $>$ 50 f Mol gefunden. (Abb.16)

	Gesamt	ER $\geqslant$ 10	ER $\geqslant$ 50
vor der Menopause	13	4 31%	3 23%
nach der Menopause $\leqslant$ 5 a	13	5 38%	1 8%
Postmenopause	46	32 70%	19 42%

Abb. 16

6.3.3.4. Vorkommen von Progesteronrezeptoren beim Carcinoma solidum simplex der Mamma

PgR-Konzentrationen $\geqslant$ 10 f Mol enthielten 32 Gewebe (44%). Konzentrationen $\geqslant$ 25 f Mol waren in 33 % vorhanden. 40 der 72 Gewebe (56%) enthielten keine PgR. (Abb.17)

In den verschiedenen klinischen Stadien ergibt der PgR-Gehalt folgendes Bild:

Im klinischen Stadium A nach Columbia sind 68% der Tumoren PgR-negativ. Während in der Gruppe B,C und D ca. 50 % keine PgR enthalten.

	Gesamt n=20	ST.A n=25	St.B n=25	St.C n=9	St.D n=13
$<$ 10	40 56%	17 68%	12 48%	5 56%	6 46%
$\geqslant$ 10	32 44%	8 32%	13 52%	4 44%	7 54%
$\geqslant$ 25	24 33%	7 28%	11 44%	3 33%	3 23%
$\geqslant$ 50	21 29%	7 28%	10 40%	2 22%	2 15%
$>$ 100	16 22%	6 24%	7 28%	1 11%	2 15%
$\geqslant$ 500	4 6%	2 8%	1 4%	0	1 8%

Abb. 17

Wenn man nun wiederum die PgR-Konzentration bei den positiven Tumoren vergleicht, so erkennt man wiederum in allen 4 Stadien ein nahezu gleiches Verteilungsbild.

6.3.3.5. Gleichzeitiges Vorkommen mehrerer Indikatoren für die Hormonabhängigkeit

In 27 Geweben (38%) waren sowohl ER als PgR $\geq$ 10 f Mol vorhanden, in 22 Fällen (31%) waren Konzentrationen von ER $\geq$ 10 f Mol , die PgR-Konzentrationen $\geq$ 25 f Mol. Konzentrationen von ER $\geq$ 50 f Mol und PgR $\geq$ 25 f Mol waren in 18 (25%) nachweisbar.

26 (36%) der 72 untersuchten Gewebe enthielten weder ein ER noch einen PgR.

ER-negativ und PgR $\geq$ 10 f Mol in 3 Fällen 4 %, ER-negativ und PgR-Konzentrationen $\geq$ 25 f Mol in 2 Fällen (3%) und ER-Konzentrationen $\geq$ 10 f Mol aber kein PgR nachweisbar in 14 Fällen (19%)(Abb.18)

	Gesamt	St.A	St.B	St.C	St.D
ER $\geq$ 10	41 (57%)	14	15	6	6
ER $\geq$ 50	23 (32%)	7	9	3	4
PgR $\geq$ 10	32 (44%)	8	13	4	7
PgR $\geq$ 25	24 (33%)	7	11	3	3
8S ER	6/15(40%)	5/10	1/5	-	-
ER $\geq$ 10 + PgR $\geq$ 10	27 (38%)	7	11	4	5
ER $\geq$ 10 + PgR $\geq$ 25	22 (31%)	7	10	3	2
ER $\geq$ 50 + PgR $\geq$ 24	18 (25%)	5	8	3	2
8S ER + PgR $\geq$ 10	6 (40%)	5	1	-	-
8S ER + PgR $\geq$ 25	6 (40%)	5	1	-	-
ER $\geq$ 50 + PgR $\geq$ 25 + 8S ER	6 (40%)	5	1	-	-
ER neg. PgR neg.	26 (36%)	10	8	3	5
ER neg. + PgR $\geq$ 10	3 (4%)	1	1	-	1
ER neg. + PgR $\geq$ 25	2 (3%)	0	1	-	1
ER $\geq$ 10 + PgR neg.	14 (19%)	7	4	2	1

Abb.18

6.3.3.6. Molekulares Verhalten der Östrogenrezeptoren (8S-ER)

In 15 Fällen wurde der Sedimentationskoeffizient ermittelt. In 6 Fällen davon (40%) wurde ein 8S ER gefunden. In allen 6 Fällen war die ER-Konzentration $\geq$ 50 f Mol und PgR-Konzentration $\geq$ 25 f Mol (Abb.18).

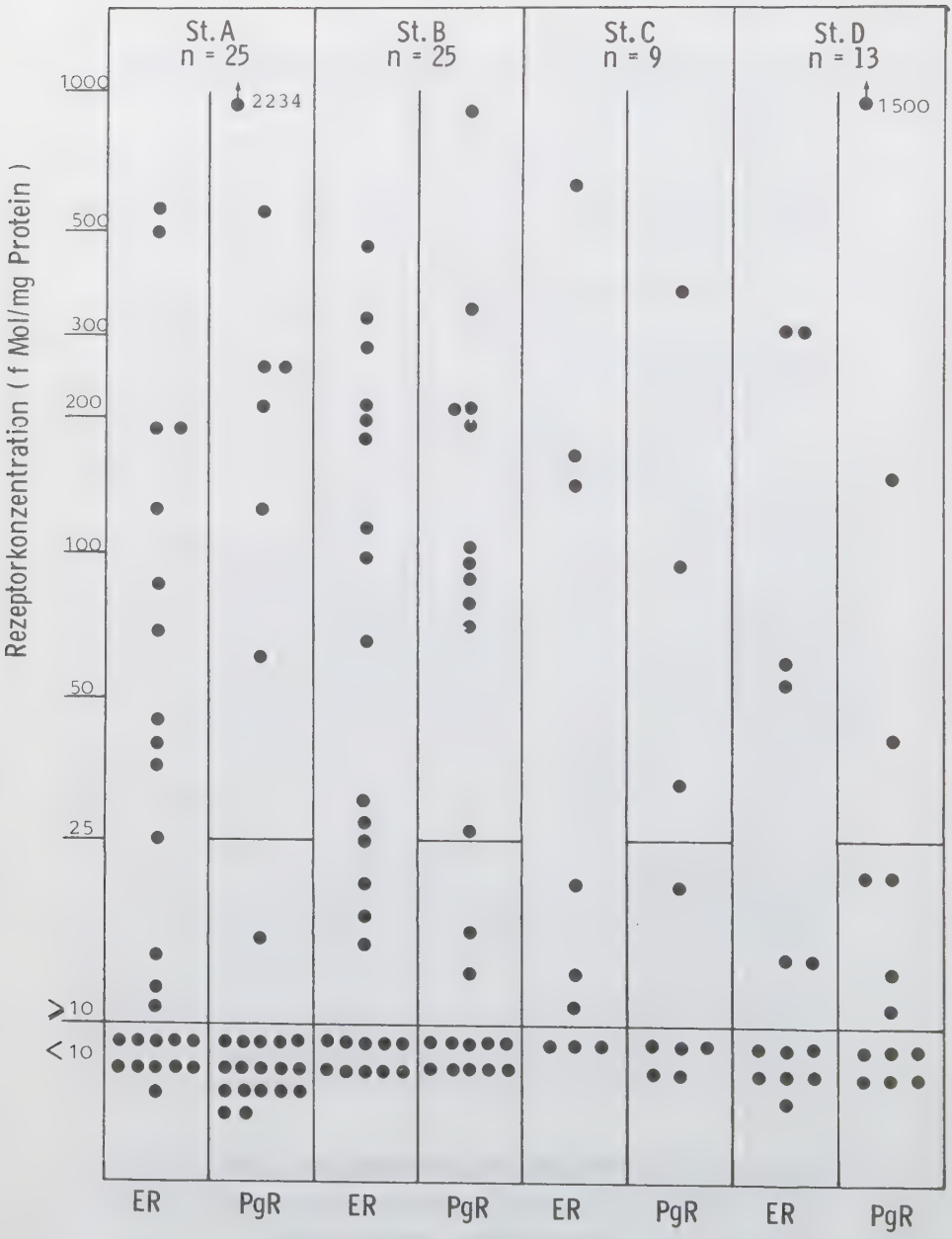


Abb. 19 Östrogen- und Progesteronrezeptoren beim Carcinoma solidum simplex der Mamma.

6.3.4.0. Adenoide Karzinome

In dieser Gruppe wurden 27 Fälle zusammengefaßt, bei denen im histologischen Bild der adenoide Charakter vorherrschend war. In den meisten Fällen handelte es sich um Mischformen, vorwiegend um Tumoren mit produktiver Fibrose.

6.3.4.1. Altersverteilung

Die jüngste Patientin war 34 Jahre, die älteste 84 Jahre alt. Das Durchschnittsalter beträgt 62 Jahre.

6.3.4.2. Stadienverteilung

8 Gewebe entstammen Tumoren des klinischen Stadiums A nach Columbia (30%), 13 (48%) Stadium B, 2 (7%) Stadium C und 4 (15%) dem Stadium D. Wie aus der Abb.20 zu entnehmen ist, befanden sich insgesamt 5 Patientinnen (19%) vor der Menopause und 21% (77%) in der Postmenopause.

	Gesamt	St.A	St.B	St.C	ST.D
vor der Menopause	5(19%)	2	2	0	1
nach der Menopause	1(4%)	0	1	0	0
Postmenopause	21(77%)	6	10	2	3
Gesamt	27(100%)	8(30%)	13(48%)	2(7%)	4(15%)

Abb.20

6.3.4.3 Vorkommen von Östrogenrezeptoren

Von 27 untersuchten Geweben wurden in 23 Fällen (85%) ER-Konzentrationen $\geqslant$10 f Mol gefunden. ER-Konzentrationen$\geqslant$ 50 f Mol waren in 15 (56%) nachweisbar. Keine ER waren in 4 Gewebsproben (15%) vorhanden. Wegen der geringen Fallzahl wird auf eine Unterteilung in die einzelnen Tumorstadien verzichtet. Bei den Geweben,die von Frauen in der Praemenopause stammen, findet man in 4 von 5 Fällen (80%) ER-Konzentrationen$\geqslant$10 f Mol, jedoch in keinem Fall waren Rezeptor-Konzentrationen $\geqslant$50 f Mol nachweisbar. In der Postemnopause sind 86% der Gewebe ER-positiv, 69% enthalten hohe ER-Konzentrationen$\geqslant$50 f Mol.

	Gesamt	ER$\geqslant$10		ER$\geqslant$ 50	
vor der Menopause	5	4	80%	0	
nach der Menopause bis 5 a	1	1	100%	1	
Postmenopause	21	18	86%	14	69%

Abb.21

Vorkommen von Östrogen- und Progesteronrezeptoren im Mammakarzinom vom histologischen Typ des adenoiden Karzinoms:

	ER		PgR	
<10	4	15%	10	37%
≥ 10	23	85%	17	63%
≥ 25	22	81%	16	59%
≥ 50	15	56%	12	44%
≥ 100	9	33%	8	30%
≥ 500	4	15%	2	7%

Abb.22

6.3.4.4. Vorkommen von PgR beim adenoiden Mammakarzinom

PgR-Konzentrationen ≥ 10 f Mol enthielten 17 Gewebsproben (63%), Konzentrationen von ≥ 25 f Mol wurden in 16 (59%) der Fälle gefunden. 10 Gewebe (37%) enthielten keine PgR (Abb. 22).

6.3.4.5. Gleichzeitiges Vorkommen mehrerer Indikatoren für die Hormonabhängigkeit

In 16 von 27 Proben (55%) waren sowohl die ER- als auch die PgR-Konzentrationen ≥ 10 f Mol gleichzeitig vorhanden, in allen 16 Fällen war PgR-Konzentration ≥ 25 f Mol. Konzentrationen von ER ≥ 50 und PgR ≥ 25 f Mol waren in 12 (44%) Geweben nachweisbar. 3 Gewebe (11%) enthielten weder einen ER noch einen PgR, in einem Fall war kein ER nachweisbar, dafür PgR-Konzentrationen $\geq$ 25 f Mol und in 7 Fällen war der ER vorhanden, aber kein PgR. (Abb. 23)

6.3.4.6. Molekulares Verhalten der Östrogenrezeptoren (8S ER)

In 16 Fällen wurde der Sedimentationskoeffizient ermittelt. 8 mal (50%) wurde ein 8S ER gefunden. In diesen Fällen waren die ER-Konzentrationen ≥ 10 f Mol die PgR-Konzentrationen ≥ 25 f Mol. In 6 untersuchten Fällen (38%) waren die ER-Konzentrationen $\geq$ 50 f Mol, die PgR $\geq$ 25 (Abb. 23).

ER $\geqslant$ 10	23	85%
ER $\geqslant$ 50	16	59%
PgR $\geqslant$ 10	17	62%
PgR $\geqslant$ 25	16	59%
8S ER	8/16	50%
ER $\geqslant$ 10 + PgR $\geqslant$ 10	16	55%
ER $\geqslant$ 10 + PgR $\geqslant$ 25	16	55%
ER $\geqslant$ 50 + PgR $\geqslant$ 25	12	44%
8S ER + PgR $\geqslant$ 10	8	30%
8S ER + PgR $\geqslant$ 25	8	30%
ER $\geqslant$ 50 + PgR $\geqslant$ 25 + 8S ER	6/16	38%
ER + PgR neg.	3	11%
ER neg. + PgR $\geqslant$ 25	1	4%
ER pos. + PgR neg.	7	20%

Abb. 23

6.3.5.0. Mucinöses Karzinom der Mamma

In 6 Fällen wurden Gewebsproben untersucht, deren histologische Diagnose ein mucinöses Mammakarzinom ergab. Auch hier handelt es sich vorwiegend um Mischformen, der mucinöse Anteil war aber vorwiegend.

6.3.5.1. Altersverteilung

Die jüngste Patientin war 45, die älteste Patientin 78, das Durchschnittsalter beträgt 69 Jahre.

6.3.5.2. Stadienverteilung

5 Gewebe entstammen von Tumoren im klinischen Stadium A nach Columbia, 1 Tumor im klinischen Stadium B.
1 Patientin befand sich vor der Menopause, 5 Patientinnen in der späten Postmenopause.

6.3.5.3. Vorkommen von Östrogenrezeptoren

In allen 6 Fällen wurden ER-Konzentrationen von $\geqq$10 f Mol gefunden, in 4 Fällen war die Konzentration höher als 50 f Mol (Abb. 24)

ER $\geqq$ 10	6
ER $\geqq$ 50	4
PgR $\geqq$ 10	3
PgR $>$ 25	3
8S ER	2/3
ER $\geqq$ 10 + PgR $\geqq$ 10	3
ER $\geqq$ 10 + PgR $>$ 25	3
ER $>$ 50 + Pgr $\geqq$ 25	3
8S ER + PgR $>$ 10	2
8S ER + PgR $>$ 25	2
ER $>$ 50 + PgR $\geqq$ 25	2
ER $\geqq$ 10 + PgR neg.	3

Abb. 24

6.3.5.4. Vorkommen von Progesteron-Rezeptoren

In 3 der 6 Fälle wurden PgR-Konzentrationen $\geqq$ 25 f Mol gefunden.

6.3.5.5. Gleichzeitiges Vorkommen mehrerer Indikatoren für die Hormonabhängigkeit

In den 3 Fällen in denen die PgR-Konzentration $\geqq$ 25 f Mol war, wurde auch eine ER-Konzentration von $\geqq$50 f Mol gefunden. 2 dieser 3 Fälle enthielten auch den 8S ER.

6.3.6.0. Comedo-Karzinom der Mamma

Es wurden 11 Gewebe vom histologischen Typ des Comedo-Karzinoms der Mamma untersucht.

6.3.6.1. Altersverteilung

Die jüngste operierte Patientin war 38 Jahre, die älteste 70 Jahre, das Durchschnittsalter betrug 53 Jahre.

6.3.6.2. Stadienverteilung

Von 11 untersuchten Comedo-Karzinomen waren 6 (55%) dem klinischen Stadium A nach Columbia zuzuordnen.
1 Gewebe dem klinischen Stadium B (9%), 2 dem klinischen Stadium C (18%) und 2 dem klinischen Stadium D (18%).
4 der 11 Patientinnen (36%) befanden sich vor der Menopause und 4 Patientinnen (36%) in der Postmenopause.

6.3.6.3. Vorkommen von Östrogen-Rezeptoren

7 der 11 Gewebe (64%) enthielten ER-Konzentrationen $\geq$10 f Mol. 3,3 (27%) 50 f Mol. Keine ER waren in 4 Fällen (36%) zu finden (Abb.25).

ER $\geq$10	7	64%
ER $\geq$10	3	27%
PGR $\geq$10	8	73%
PgR $\geq$25	5	45%
8S ER	1/3	33%
Er $\geq$10 + PgR $\geq$ 10	5	45%
ER $\geq$10 + PgR $\geq$25	5	45%
ER $\geq$50 + PgR $\geq$25	3	27%
8S ER + PgR $\geq$10	1	33%
8S ER + PgR $>$25	1	33%
ER $\geq$50 + PGR $\geq$ 25 + 8S ER	1	33%
ER neg. + PgR neg.	3	27%
ER neg. + PgR $\geq$25	1	9% Abb.25

In den Geweben, die von Frauen in der Prämenopause stammen, findet man ER-Konzentrationen $\geq$10 f Mol in 50%. Hohe Konzentrationen $\geq$50 f Mol waren keine vorhanden. In der späten Postmenopause haben 3 von 4 Geweben ER-Konzentrationen $\geq$10 f Mol, 2 sogar $>$50 f Mol (Abb.26)

	Gesamt	ER ≥ 10	ER ≥ 50
vor der Menopause	4 36%	2	0
nach der Menopause ≤ 5 a	3 27%	2	1
nach der Menopause	4 36%	3	2
Gesamt	11 100%	7 (63%)	3 (27%)

Abb.26

6.3.6.4. Vorkommen von Progesteron-Rezeptoren

PgR-Konzentration ≥10 f Mol wurden in 8 Geweben (73%) gefunden. Konzentrationen ≥25 f Mol in 5 Fällen (45%).

6.3.6.5. Gleichzeitiges Vorkommen mehrerer Indikatoren für die Hormonabhängigkeit

In 5 Geweben wurden ER in Konzentration ≥10 f Mol und PgR in Konzentrationen von ≥25 f Mol gefunden. In 3 dieser Gewebe fanden sich ER-Konzentrationen ≥50 f Mol.

In 1 von 3 untersuchten Geweben fand sich ein 8 S ER. In diesem Gewebe waren sowohl die ER-Konzentrationen ≥ 50 f Mol als auch die PgR-Konzentrationen von ≥ 25 f Mol.

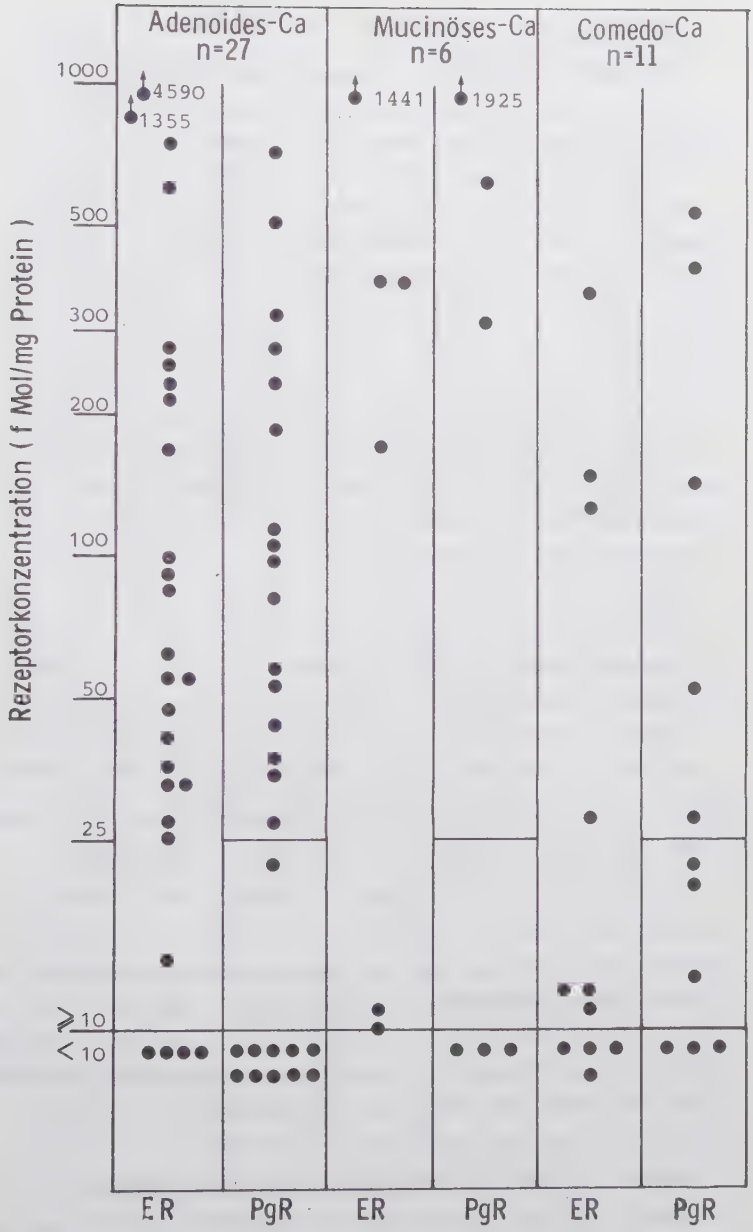


Abb. 27 Östrogen und Progesteronrezeptoren beim adenoiden, mucinösen und Comedo-Karzinom der Mamma.

6.4.0. Morbus Paget

2 Gewebeproben entstammen Mammagewebe der histologischen Diagnose: Pagetkarzinom. Beide Patientinnen befanden sich in der späten Postmenopause.
Die ER-Konzentrationen waren in beiden Fällen $\geqslant$ 10 f Mol, aber unter 50 f Mol. In einem der beiden Gewebe wurde zusätzlich ein PgR von $\geqslant$ 10 f Mol gefunden. Ein 8S ER ist nicht nachgewiesen worden.

6.5.0. Sarcom

Eine Gewebsprobe entstammt einem Tumor mit der histologischen Diagnose Rundzellsarcom. Das Gewebe entstammt einem Tumor im klinischen Stadium D nach Columbia. Die Patientin war 56 Jahre. In diesem Gewebe wurden keine Rezeptoren nachgewiesen.

6.6.0 Metastasen

22 Untersuchungsproben entstammen metastatischen Absiedelungen von Karzinomen unterschiedlicher histologischer Diagnose. 18 der 22 Gewebsproben (82%) enthielten ER. 32% zeigten eine Konzentration von $\geqslant$50 f Mol.

In 15 von 22 (68%) der Fälle wurden PgR-Konzentrationen $\geqslant$ 10 f Mol gefunden, in 13 (59%) $\geqslant$ 25 f Mol.

Keine Rezeptoren enthielten 3 Gewebe (14%). (Abb.28)

ER und PgR $\geqslant$10 f Mol wurden in 14 Proben gefunden (63%). In 13 Fällen war die PgR-Konzentration $\geqslant$ 25 f Mol (59%). Hohe ER-Konzentrationen $\geqslant$ 50 f Mol und PgR-Konzentrationen $\geqslant$ 25 f Mol wurden in 6 Geweben bestimmt (27%). In 4 Fällen (18%) war der ER vorhanden aber kein PgR. In einem Fall war kein ER nachweisbar, die PgR-Konzentration war $\geqslant$ 10 f Mol. (Abb.29)

In 4 von 12 Fällen (33%) wurde ein 8S ER ermittelt. In diesen 4 Fällen war die ER-Konzentration $\geqslant$10 f Mol und PgR-Konzentration $\geqslant$25 f Mol. 3mal war die ER-Konzentration sogar $\geqslant$50 f Mol.

ER ≥ 10	18	82%
ER ≥ 50	7	32%
PgR ≥ 10	15	68%
PgR ≥ 25	13	59%
8S ER	4/12	33%
ER ≥ 10 + PgR ≥ 10	14	63%
ER ≥ 10 + PgR ≥ 25	13	59%
ER ≥ 50 + PgR ≥ 25	6	27%
8S ER + PgR ≥ 10	4	33%
8S ER + PgR ≥ 25	4	33%
ER ≥ 50 + PgR ≥ 25 + 8S ER	3	25%
ER neg. PgR neg.	3	14%
ER ≥ 10 PgR neg.	4	18%
ER neg. PgR ≥ 10	1	5%

Abb. 28

n = 22

	ER		PgR	
< 10	4	18%	7	32%
≥ 10	18	82%	15	68%
≥ 25	11	50%	13	59%
≥ 50	7	32%	7	32%
≥ 100	4	18%	5	23%
≥ 500	0		0	

Abb. 29

6.7.0. Gutartige Veränderungen der Brustdrüse und normales Mammagewebe

6.7.1. Mammagewebe ohne pathologische Veränderungen

Es wurden 5 Gewebsproben der Mamma untersucht, die histologisch keine pathologischen Veränderungen aufwiesen. 3 dieser Gewebe enthielten weder einen PgR noch einen ER. In zwei Geweben waren geringe Konzentrationen von ER vorhanden.

6.7.2. Cystosarcoma phylloides

2 Gewebsproben entstammen Mammatumoren mit der histologischen Diagnose Cystosarcoma phylloides. In einem Tumor ließen sich ER-Konzentrationen $\geqslant$ 400 f Mol nachweisen. Der PgR war negativ. Ein 8S ER war vorhanden. Im zweiten Fall war die ER-Konzentration 18 f Mol, die PgR Konzentration 205 f Mol. Es war kein 8S ER vorhanden.

6.7.3. Fibroadenom

3 Gewebe der histologischen Diagnose Fibroadenom wurden untersucht. 2 davon enthielten weder einen ER noch einen PgR. In einem Fall war die ER-Konzentration 48 f Mol, die PgR-Konzentration 34 f Mol, ein 4S ER wurde nachgewiesen.

6.7.4. Mastopathie

10 Gewebe der histologischen Diagnose Mastopathie kamen zur Untersuchung. 8 der Gewebe enthielten keine Rezeptoren. In zwei Geweben wurden PgR von 25 f Mol bzw. 17 f Mol ohne den Nachweis eines ER gefunden.

6.7.5. Gynäkomastie

3 Gewebe entstammen männlichen Brustdrüsen, die wegen einer Gynäkomastie untersucht wurden. In allen 3 Proben ließ sich weder ein ER noch ein PgR nachweisen.

6.8.0. Vorkommen von Rezeptoren im Mammakarzinom

Gesamtübersicht

270 Gewebe von Mammakarzinomen unterschiedlicher histologischer Diagnose wurden auf ihren Rezeptorgehalt untersucht.

6.8.1. Vorkommen von Östrogenrezeptoren

In 192 Geweben (71%) wurden ER-Konzentrationen $\geq$ 10 f Mol gefunden. Rezeptor-Konzentrationen von $\geq$ 50 f Mol waren in 122 Fällen 45 % vorhaden. 78 Fälle (29%) waren ER-negativ.(Abb. 30,31)

	ER		PgR	
$<$ 10	78	29%	124	46%
$\geq$ 10	192	71%	146	54%
$\geq$ 25	159	59%	117	43%
$\geq$ 50	122	45%	93	34%
$\geq$100	79	29%	61	23%
$\geq$500	13	5%	12	4%

Abb.30

55 Patientinnen befanden sich in der Praemenopause (20%). In dieser Gruppe waren 58% der Gewebe ER-positiv, lediglich 16 % enthielten Konzentrationen $\geq$ 50 f Mol.

45 Patientinnen (17%) befanden sich in den ersten 5 Jahren nach der Menopause. In dieser Gruppe waren 67% der Tumoren ER-positiv, Konzentrationen von $\geq$ 50 f Mol enthielten 38%.

170 Patientinnen befanden sich in der Postmenopause, 77% der untersuchten Tumorgewebe waren ER-positiv. 51 % enthielten hohe Konzentrationen $\geq$ 50 f Mol.(Abb. 32)

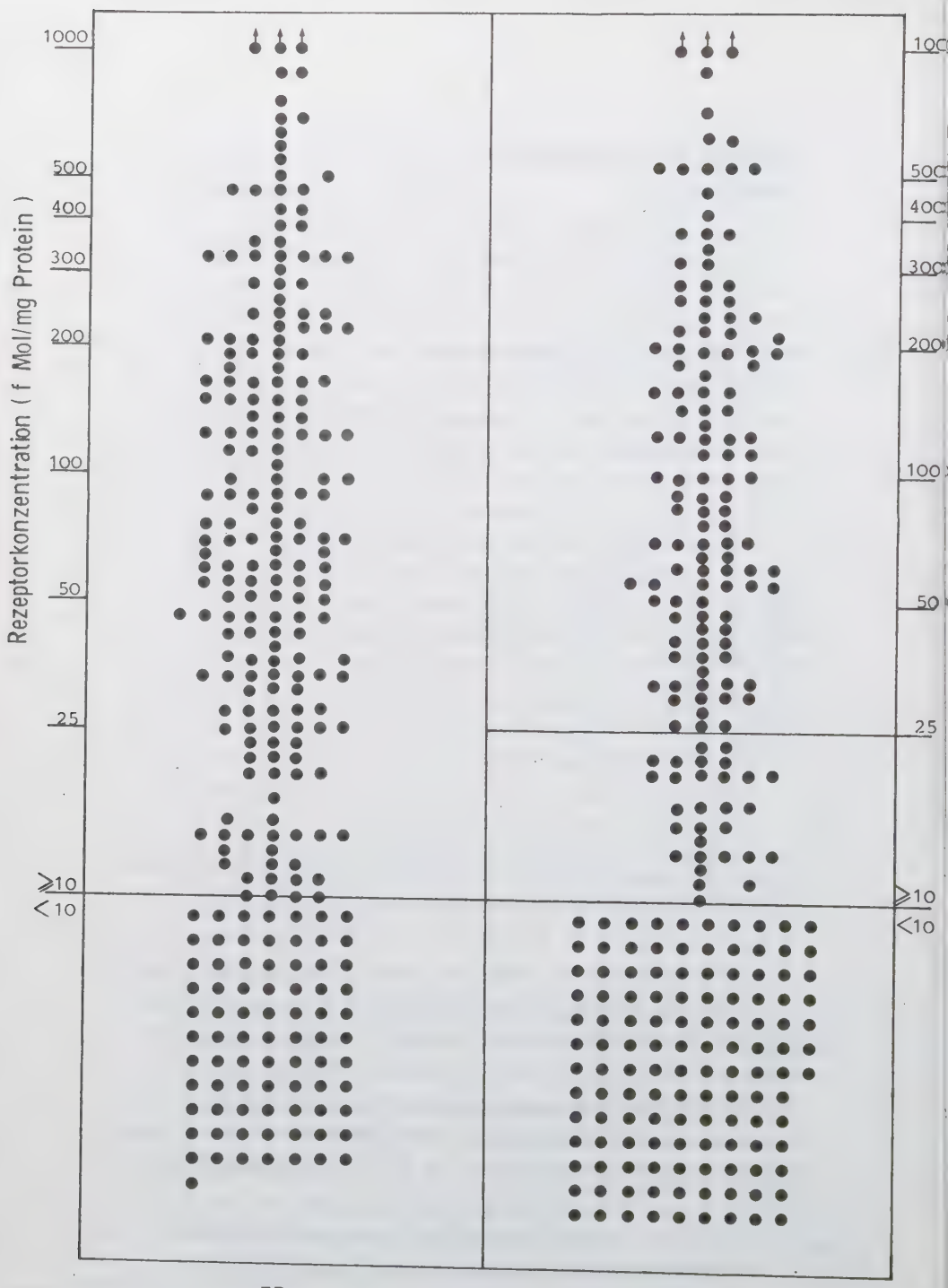


Abb. 31 Rezeptorkonzentrationen beim Mammakarzinom

	Gesamt	ER neg.	ER 10	ER 50
vor der Menopause	55 20%	23 42%	32 58%	9 16%
nach der Menopause bis 5a	45 17%	15 33%	30 67%	17 38%
nach der Menopause über 5a	170 63%	39 23%	131 77%	86 51%

Abb.32

6.8.2. Vorkommen von PgR beim Mammakarzinom

PgR-Konzentrationen $\geqslant$ 10 f Mol wurden in 146 (54%) der Gewebe gefunden. Konzentrationen $\geqslant$ 25 f Mol enthielten 117 Proben (43%).(Abb. 30,31)

6.8.3 Gleichzeitiges Vorkommen mehrerer Indikatoren für die Hormonabhängigkeit

Gemeinsam kamen ER und PgR in Konzentrationen von $\geqslant$ 10 f Mol in 127 Geweben vor (47%). ER $\geqslant$ 10 und PgR $\geqslant$ 25 f Mol in 109 (40%), ER-Konzentrationen $\geqslant$ 50 f Mol und PgR $\geqslant$ 25 f Mol in 82 (30%) der Fälle. Weder ER noch PgR enthielten 61 (23%) Proben. ER-negativ und PgR $\geqslant$ 10 f Mol (6%), ER $\geqslant$ 10 f Mol, PgR-negativ 64 (24%) der Proben. (Abb.33)

ER $\geqslant$ 10	192	71%
ER $\geqslant$ 50	122	45%
PgR $\geqslant$ 10	146	54%
PgR $\geqslant$ 25	117	43%
ER $\geqslant$ 10 + PgR $\geqslant$ 10	127	47%
ER $\geqslant$ 10 + PgR $\geqslant$ 25	109	40%
ER $\geqslant$ 50 + PgR $\geqslant$ 25	82	30%
ER neg. PgR neg.	61	23%
ER neg. PgR $\geqslant$ 10	17	6%
ER $\geqslant$ 10 PgR neg.	64	24%

Abb. 33

6.8.4. Molekulares Verhalten der ER (8S ER)

In insgesamt 98 Karzinomgeweben wurde der Sedimentationskoeffizient ermittelt. 44mal wurde ein 8S ER gefunden. In 54 Fällen wurde ein 4S ER gefunden. (Abb. 34)

	n	8S ER
ER ≥ 10 + PgR neg.	30	10 33%
ER ≥ 10 + PgR ≥ 10	68	34 50%
ER ≥ 10 + PgR ≥ 25	59	31 53%
ER ≥ 50 + PgR neg.	15	8 53%
ER ≥ 50 + PgR ≥ 10	49	32 65%
ER ≥ 50 + PgR ≥ 25	44	29 65%
Gesamt	98 100%	44 45%

Abb.34

Lediglich in 4 Fällen (9%) war ein 8S ER bei niederen Rezeptorkonzentrationen von ER 10 bis 49 f Mol vorhanden. In 40 Fällen (91%) war die ER-Konzentration ≥ 50 f Mol.

Bei niederen PgR-Konzentrationen zwischen 10 und 25 f Mol war der 8S ER lediglich in 29 (30%) der Fälle vorhanden. 70% 8S ER wurden bei Tumoren gefunden, die einen PgR-Gehalt von ≥ 25 f Mol aufwiesen.

Die größte Anzahl an 8S ER ließ sich bei Geweben zeigen, die sowohl hohe ER als auch hohe PgR Konzentrationen aufwiesen. Bei Konzentrationen von ER ≥ 50 und PgR ≥ 25 f Mol wurde in 66% der Fälle der 8S ER nachgewiesen.

Zusammenfassend möchte ich sagen, je höher die ER-Konzentration desto höher die PgR-Konzentration. Je höher die Rezeptor-Konzentration umso mehr 8S ER werden gefunden. In unseren untersuchten Geweben wurden in insgesamt 32% der Fälle ein 8S ER nachgewiesen.

6.8.5. Rezeptorkonzentrationen bei Karzinomen verschiedener histologischer Diagnose

Ordnen wir die Rezeptorbefunde den verschiedenen histologischen Diagnosen zu, so erhalten wir ein unterschiedliches Bild. Die gut differenzierten Karzinome, wie das adenoide und mucinöse Karzinom enthalten häufiger ER, so das mucinöse Karzinom in 100 % der Fälle und das adenoide Karzinom in 85%. Aber auch das lobuläre Karzinom enthält in 80% der Fälle ER. Während das nicht invasive Karzinom und das Sarcom keine Rezeptoren enthalten, enthalten die Morbus Paget Tumoren in beiden Fällen lediglich niedere Konzentrationen von ER. Völlig entdifferenzierte Karzinome wie das solide Karzinom enthalten nur in 57 % der Fälle ER, während solche mit produktiver Fibrose, die nur mäßig entdifferenziert sind, in 76% der Fälle ER enthalten.

Auch scheint sich ein deutlicher Unterschied abzuzeichnen in der Anzahl der Tumoren, die PgR-Konzentrationen $\geqslant$ 25 f Mol enthalten. Das mucinöse und adenoide Karzinom enthalten in 50% bzw. 59% der Fälle positive PgR-Konzentrationen, während beim soliden Karzinom nur in 33% PgR-Konzentrationen von $\geqslant$25 f Mol zu finden sind. (Abb. 35)

	Gesamt	> 10	⩾ 50	PgR> 25	ER⩾ 50+PgR ⩾ 25
I Lobuläres Ca	5	4 (80%)	3 (60%)	5 (100%)	3 60%
II Ductales Ca	262				
a) non invasives Ca	2	0	0		0
b) mit produktiv.Fibr.	144	109 (76%)	73 (51%)	64 (44%)	43 30%
c) solide Ca	72	41 (57%)	23 (32%)	24 (33%)	18 25%
d) adenoide Ca	27	23 (85%)	16 (59%)	16 (59%)	12 44%
e) mucinöse Ca	6	6 (100%)	4 (67%)	3 (50%)	3 50%
f) Comedo Ca	11	7 (64%)	3 (27%)	5 (45%)	3 27%
III Morbus Paget	2	2 (100%)	0	0	0
IV Sarcome	1	0	0	0	0
V Metastasen	22	18 (82%)	7 (32%)	13 (59%)	6 27%

Abb. 35

7. Diskussion

In guter Korrelation mit den verschiedenen Literaturangaben finden wir in 71 % der Gewebe von Mammakarzinomen unterschiedlicher histologischer Diagnosen ER-Konzentrationen von $\geqslant$10f Mol, wobei hohe Konzentrationen $\geqslant$50 f Mol in 45 % der Gewebe gefunden wurde.(Abb. 36)

Die Rate der ER-positiven Gewebe ($\geqslant$10 f Mol) bei Tumoren von Frauen, die sich vor der Menopause befunden haben, ist mit 58 % geringer, als bei Geweben von Frauen in der Postmenopause (77%).

Betrachtet man das Vorkommen von hohen ER-Konzentrationen $\geqslant$50 f Mol, wird dieser Unterschied noch deutlicher (16% : 51%).(Abb. 32)

Zwei Gründe für dieses unterschiedliche Verhalten werden diskutiert.

1) Daß durch die vorhandenen Östrogene in der Praemenopause die Rezeptoren in den Zellkern translociert sind, bzw. verbraucht werden, und daher im Cytosol vermindert nachweisbar sind.
2) Daß sich auch die Dignidität des Tumors in Abhängigkeit vom Lebensalter ändert.

Tumoren in der Praemenopause sind ihrer Prognose ungünstiger als solche in der Postmenopause. Nachdem ein Zusammenhang zwischen der Wahrscheinlichkeit des Auftretens von ER und der Malignität besteht, wäre somit die geringere Rate an Rezeptor-positiven Tumoren erklärbar.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß nur in 57% der ER-positiven Gewebe auch ein PgR $\geqslant$ 25 f Mol nachweisbar ist. Es scheint bei diesen Fällen der Östrogenwirkungsmechanismus, der sich in der Bildung von PgR ausdrücken soll, intakt zu sein. (Abb. 36)

Die Tatsache, daß 93% der PgR-positiven ($\geqslant$ 25 f Mol) Fälle eine ER-Konzentration von $\geqslant$10 f Mol aufweisen, spricht ebenfalls für diese Hypothese.(Abb. 36)

Als zusätzlichen Parameter für den intakten intrazellulären Rezeptormechanismus, fanden wir in 32% der untersuchten Gewebe einen 8S ER. Dieses war meistens verbunden mit dem Vor-

kommen von hohen ER-Konzentrationen ⩾50 f Mol. Ein direkter Zusammenhang mit dem Vorkommen eines PgR konnte nicht gefunden werden. (Abb. 36)

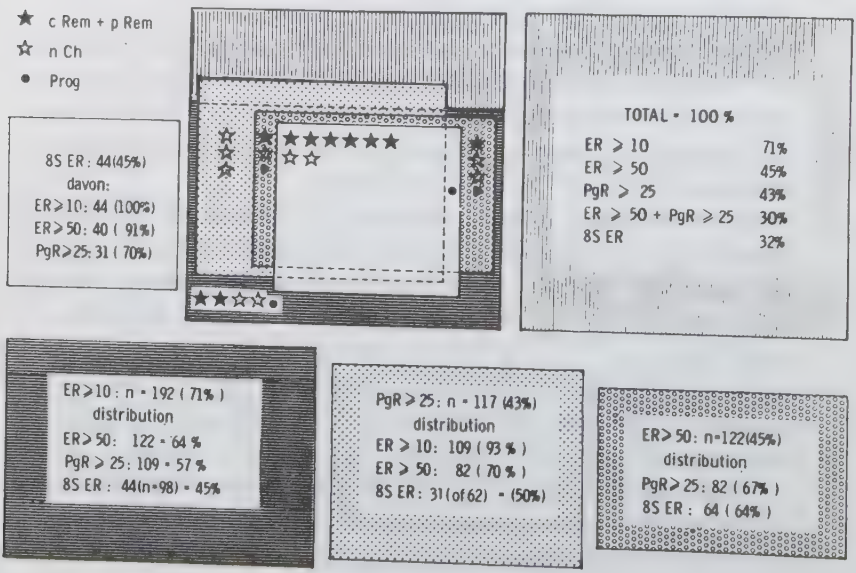
Unterschiedlicher morphologischer Aufbau eines Tumors äußert sich meistens in einer verschieden hohen Rate an ER positiven Befunden.

So zeigt sich in unseren Ergebnissen die Tatsache, daß bei gut differenzierten Tumoren, wie dem adenoiden und mucinösen Ca der Mamma, in ⩾ 85% ER-Konzentrationen ⩾ 10 f Mol zu finden sind, während bei entdifferenzierten Tumoren wie dem soliden Tumor nur in 57% ER-Konzentrationen ⩾10 f Mol nachzuweisen sind. Die Rate an PgR-positivem Gewebe ist mit ⩾50% bei den gutdifferenzierten Tumoren höher als bei den entdifferenzierten Tumoren der Mamma (33%). (Abb.35)

Während offensichtlich der Differenzierungsgrad einen Einfluß auf das Vorkommen von Rezeptoren hat, scheint eine Korrelation mit den klinischen Stadien nicht vorhanden zu sein.

Dies gilt sowohl für den ER als auch den PgR.

Innerhalb der Rezeptor-positiven Fälle scheint es bezüglich der Konzentration sowohl der ER als auch der PgR keinen Unterschied zu geben. (Abb. 30,31)



Im untersuchten Mammagewebe ohne pathologische Veränderung wurden keine nennenswerten ER-Konzentrationen nachgewiesen. In gutartigen Veränderungen der Brustdrüse konnten wir in den Tumoren, die als Praekanzerose anzusehen waren, positive ER- und PgR-Konzentrationen nachweisen. So vor allem im Cystosarcoma phylloides. In mastopathischen Geweben fanden wir keine positiven Rezeptorkonzentrationen, lediglich in zwei Proben geringe PgR-Konzentrationen. Erwähnenswert erscheint noch, daß in 3 Fällen von Gynäkomastie beim Mann sich keine Rezeptoren nachweisen lassen.

Die Wahrscheinlichkeit mit welcher ein Ansprechen der verschiedenen Krebsformen auf hormonale Palliativtherapie erwartet werden darf, ist im Augenblick nicht mit Sicherheit zu beantworten. Es ist ein entscheidender Nachteil, daß zum Beispiel nur 55% der Rezeptor-positiven Mammakarzinome auf eine Hormontherapie ansprechen. Es besteht jedoch Hoffnung, daß die Behandlungsergebnisse in der nächsten Zeit erweitert werden, daß die Östrogen-Rezeptor-positiven und 8S-Rezeptor-positiven und Progesteron-Rezeptor-positiven Fälle jene sind, die selektiv auf Hormontherapie ansprechen. Nur die Behandlungsergebnisse der nächsten Zukunft könnten dies erweisen. Der Umstand nämlich, daß das Vorhandensein eines Rezeptors noch keinesfalls die Hormonwirkung garantieren, belastet unsere Vorstellungen. Falls sich jedoch erweisen wird, daß Karzinomgewebe welches Östrogen-Rezeptoren in genügender Konzentration enthält und zusätzlich den höhermolekularen 8S-Rezeptor und auch das Produkt der Östrogenwirkung nämlich den Progesteron-Rezeptor aufweist, so scheint damit eine höhere Wahrscheinlichkeit gegeben, daß dieser Krebs auf eine Hormonbehandlung anspricht. (Abb.36)

Für die Hormontherapie des Mammakarzinoms scheint es noch bedeutend, daß einige androgene Nebennierenrindensteroide (Dehydroepiandrosteron,Androstendion) über intrazellulärgebildete Metabolite erheblich Östrogenwirkung am Rezeptor entfalten (Thijssen 1977). Eine eventuell chemische Adrenalektomie (Dexamethason)müßte daher zusätzlich zur Antiöstrogentherapie erfolgversprechend sein. In den Therapieschemata zur Chemotherapie des Mammakarzinoms wird dieser Tatsache Rechnung getragen, indem den Cytostatika zumeist Cortison hinzugefügt wird.

8. Zusammenfassung:

Untersucht wurde das Verhalten der Steroidhormonrezeptoren bei 316 Mammatumoren unterschiedlicher histologischer Beschaffenheit.
Nach Darstellung des heutigen Standes des Wissens über die Interaktion von Hormon und Zelle, wird über die klinische Bedeutung der Hormonrezeptoren beim Mammakarzinom berichtet.
Die alleinige Bestimmung der Östrogen-Rezeptoren (ER) zur Voraussage einer Hormonansprechbarkeit eines Mammatumors liefert einen hohen Anteil falsch positiver Ergebnisse (50%).
Um die Möglichkeit der Voraussage einer Hormonansprechbarkeit zu verbessern, wurde zusätzlich die Rezeptorquantität berücksichtigt.
Als Folgeprodukt eines intakten Östrogenwirkungsmechanismus wird das Vorkommen von Progesteron-Rezeptoren (PgR) aufgefaßt und die Ergebnisse mitgeteilt. Zusätzlich wird durch Bestimmung des Sedimentationskoeffizienten das Molekulargewicht der ER untersucht.
Die Bestimmung der Konzentration von ER und PgR erfolgte mit der von Wittliff modifizierten Methode nach Korenmann (dextranbeschichtete Aktivkohle-Methode oder DCC-Assay).
Die Ergebnisse wurden nach der Scatchard Plot Analyse errechnet.
Die Bestimmung der Sedimentationskoeffizienten des ER erfolgte durch die Sucrose-Dichte-Gradienten-Zentrifugation.

Ergebnisse:

270 Gewebe von Mammakarzinomen wurden auf ihren Rezeptorgehalt untersucht. Eine Unterteilung erfolgte aufgrund des histologischen Typs.
In 71 % der Gewebe wurden ER-Konzentrationen über 10 fMol (ER positiv) gefunden, in 45 % ER-Konzentrationen über 50 fMol (ER "rich").
PgR-Konzentrationen über 25 fMol (PgR positiv) wurden 43 % der Fälle nachgewiesen.

Je höher die ER-Konzentrationen desto häufiger auch das Vorkommen von PgR.
30 % der Gewebe waren ER "rich" und PgR positiv.
In 98 Karzinomgeweben wurde das molekulare Verhalten der ER studiert, in 45 % wurde ein 8S ER (MG ca. 240 000) nachgewiesen. Je höher die ER-Konzentrationen umso häufiger fand man den hochmolekularen 8S ER. Bei Tumoren, die ER "rich" und PgR positiv waren, war in 65 % ein 8S ER nachweisbar.
Gut differenzierte Mammakarzinome enthielten häufiger ER und PgR als entdifferenzierte Karzinome. Nichtinvasive Karzinome enthielten keine ER und PgR.
Eine Abhängigkeit der Rezeptorquantität vom klinischen Stadium eines Mammakarzinoms wurde nicht gefunden.
Die Rate an ER positiven Geweben bei Tumoren von Frauen, die sich vor der Menopause befanden, ist mit 58 % geringer, als bei Geweben von Frauen in der Postmenopause (77 %).
In 24 untersuchten Mammageweben ohne pathologische Veränderungen wurden keine nennenswerten Rezeptorkonzentrationen nachgewiesen.
Metastasen zeigten ähnliches Verhalten wie die Primärtumoren.
Die vorgelegten Ergebnisse bestätigten die Annahme, daß die PgR-Synthese eine Folge der Östrogenwirkung ist.
Der 8S ER scheint ein wichtiger Parameter für das Vorliegen eines intakten intrazellulären Rezeptormechanismus zu sein.
Die Bestimmung der zuvor genannten Parameter in Mammakarzinomgeweben sollte die Voraussage einer Ansprechbarkeit auf eine hormonale Therapie verbessern.
32% der untersuchten Gewebe erfüllen die genannten Kriterien (ER "rich", PgR positiv, 8S ER). Dies entspricht etwa dem Prozentsatz der Mammatumoren, die auf eine Hormontherapie ansprechen.

L i t e r a t u r

1) Abraham,G.E.: Solid - phase radioimmunoassay of estradiol - 17 ß. J.Clin.Endocrinol. Metab.28:866, 1969.

2) Allegra J.C.: Fortschritte in der endokrinen Behandlung des Mamma-Ca. Mitteilung anläßlich des ICI-Symposiums, Heidelberg 31.8.-2.9.1978.

3) Allen,E.: The oestrus cycle in the mouse.
Am.J.Anat. 30: 297,1922

4) Alm,P., Ferno,M., Friberg,L.G., Norgen,A.: Estradiol and progesterone receptor concentration in endometrial carcinoma, related to histological parameters and ionizing irradiation.
Cancer Treatment Reports. Vol. 63, Nr.7, 1189 (1979)

5) Andernson, D.G.
Am.J.Obstet.Gynec. 92,87 1965

6) Anderson, F.N., Clark, J.H., Peck, E.J.: The relationship between nuclear receptor-estrogen binding and uterotropic responses. Res. Commun. 48:1460, 1972

7) Ascheim, S., Zondek, B.: Hypophysenvorderlappenhormon und Ovarialhormon im Harn von Schwangeren.
Klin.Wschr.6:1332, 1927

8) Astwood, E.B.: Regulation of corpus luteum function by hypophysial luteotropein. Endocrinology 28:309, 1941

9) Astwood, E.B.: A six hour assay for the quantitative determination of estrogen. Endocrinology 28:309, 1941

10) Bauer,K.H.: Das Krebsproblem.
2. Auflage.Springer Verlag - Berlin-Göttingen-Heidelberg 1963.

11) Beatson, G.T.: On the treatment of incoperable cases of carcinoma of the mamma suggestion for a new method of treatment, with illustrative cates.
Lancet 2:104,162,1896

12) Benraad, Th.J., Ftiberg, L.G., Koenders, A.J.M., Kullander,S.: Do estrogen- and progesterone receptors in metastasizing endometrial cancer predict the response to gestagen therapie?
Cancer Treatment Reports: Vol. 63,Nr.7:1188, 1979

13) Black, M.M., Barclay, T.H., Hankey,B.F.: Prognosis in breast cancer utilizing histologic characteristics of the primary tumour. Cancer, 36: 2048, 1975

14) Bloom,N.D., Toben,E.H., Degensheim,G.A.: Significance of the progesterone receptor in the management of advanced breast cancer. First Innsbruck Winter-Conference, January 1978.

15) Bogdanove,E.M.,Nolin,J.M.,Campbell,G.T.: Qualitative and quantitative gonade pituitary feedback. Rec.Progr.Horm. Res.31:567, 1975.

16) Bonadonna, G.A., Valagussa, Tancini,G., Fronzo di,G.: Oestrogen receptor status and response to chemotherapy in early and advanced breast cancer. First International Congress on Hormones and Cancer. Rome, Oct. 3-6 1979.

17) Bonte,J.: Hormonal Dependence of Endometrial adenocarcinoma and its hormonal sensitivity to Progestogens and Anti-estrogens. First International Congress on Hormones and Cancers. Rome Okt. 3-6 1979

18) Bonte, J.B., Dorchmans, A., Ide, P.:
Acta Obstet.Gynec.Scand. 45, 212, 1966

19) Brooks, S.C., Rozhin, J., Pack, B.A., Hozn,L., Godefroi V.C., Locke, E.R., Remblinka, D.V.: Role of sulfate conjugation in estrogen metabolism and activity. J.Toxicol, Environ.Health, 4:283, 1978

20) Brown, J.B., Klopper,A., Loraine,J.A.: The urinary excretion of oestrogens, pregnandiol and gonatropins during the menstrual cycle. J.ClinEndocrinol.Metab. 17:401,1958

21) Brush,M.G.,Talor,R.W., King,R.J.G.: The uptake of (6,7-^{3}H) oestradiol by the normal human femal reproductive tract. J.Endocrin. 39:599, 1967

22) Buller,B.J.,Haehnel,R: Metabolism of estradiol-17ß in human endometrium during the menstrual cycle. J.Steroid Biochem. 6:1489, 1975

23) Bullock,D.W.: Progesterone induction of messenger-RNA and protein synthesis in rabbit uterus. Ann.N.Y.Acad.Sci.286:260,1977.

24) Butenandt,A.: Über Progynon, ein kristallinisiertes weibliches Hormon. Naturwissenschaften 17: 879,1929

25) Butenandt,A., Westphal,K.: Zur Isolierung und Charakterisierung des Corpus-Luteum-Hormons. Ber.Dtsch.Chem.Ges. 67:1440, 1934

26) Chamness, G.C., Mc Guire, W.L.: Estrogen receptors in the rat uterus: Physiological forms and artefacts. Biochemistry 11: 2466, 1972

27) Chan,L., O'Malley,B.W.: Mechanism of action of the sex steroid hormones. N.Eng.J.Med. 294:1322, 1976

28) Clauberg,C.: Der biologische Test für das Corpus-Luteum Hormon.Klin.Wschr.9:2004, 1930

29) Cooke, T.: Östrogenrezeptoren: Ein Hinweis auf die Prognose im Frühstadium. Second Breast Cancer Working Conference Kopenhagen 31.5.-2.6.1979.

30) Czygan,P.J.: Regulationsprinzipien der weiblichen Keimdrüsenfunktion. Fortschr. Geb. Gynäk., Vol. 52:121, 1974 (Karger,Basel)

31) Daxenbichler, G. Grill,H.J., Wiesinger, H., Wittliff, J.L., Dapunt, O.: Quantity and molecular behaviour of estrogen and progesterone binding proteins in normal and neoplastic tissues of the human genital tract and in mammary carcinoma. In: Multiple forms of Steroid Hormone Receptors. M.K. Agarwal, ed., 163(1977), Elsevier Publ. etc.

32) Doisy, E.A., Veler, C.D., Thyer, S.: Folliculin from urine of pregnant women. Am.J.Physiol. 90:329, 1929

33) Ehrlich, C.E., Young, P.C., Cleary, R.E.: Progesterone receptor (PR) as a marker of progestine responsive human endometrial cancer.
Innsbruck Winter Conference, January 1978

34) Ehrlich, P.: Über den jetzigen Stand der Chemotherapie. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 42:17, 1909.

35) Elston,C.W.: Östrogenrezeptoren (ER) in primären Mamma-Tumoren: Korrelation mit dem histologischen Malignitätsgrad. Second Breast Cancer Working Conference, Kopenhagen, 1.5.-2.6. 1979

36) Engel,L.L., Groman,E.V.: Human placental 17-ß-estradiol dehydrogenase. Characterization and structural studies. Rec.Prog.Hormon.Res. 30:-39, 1974

37) Evans,L.H., Gardiner, M., Haehnel,R.: Estrogen receptors in human uterine tissue. J.Endocrin.50: 209, 1971

38) Folca, P.J., Glascock, R.F., Irvine,W.T.: Studies with tritium-labeled hexoestrol in advanced breast cancer. Lancet 796, 1961

39) Glascock, R.F., Hoeckstra, W.G.: Selective accumulation of tritium-labeled hexoestrol by the reproductive organs of immature female goats and sheep. Biochem.J. 72: 673, 1959

40) Gurpide,E., Gusberg, S.B., Tseng,L.: Estradiol-binding and metabolism in human endometrial hyperplasia and adenocarcinoma. J.Steroid Biochem. 7, 891, 1976

41) Haehnel, R., Twaddle, E., Brindle, L.: The influence of enzymes on the estrogen receptors of human uterus and breast carcinomas. Steroids 24, 4, 489, 1974

42) Hamilton, T.H.: Control by estrogen of genetic transcription and translation. Science 161:649, 1968

43) Hammerstein,J.: Hormonanalytische Untersuchungen zur Frage der endokrinen Korrelation im biphasischen Menstruationszyklus der Frau. Arch.Gynäk. 196: 504, 1962

44) Harris, G.W.: The neural control of the pituitary gland. Arnold, London 1955

45) Harrison, R.W., Fairfield, S., Orth, D.N.: Evidence for glucocorticoid transport through target cell membrane.
Biochem.Biophys.Res.Commun. 61: 1262, 1974

46) Harrison, R.W., Fairfield,S., Orth, D.N.: Evidence for a glucocorticoid transport into AT T-20,A-I cells.
Biochemistry 14: 1304, 1975

47) Haukkamaa, M., Luukkaninen, T.: The cytoplasmic progesterone receptor in human endometrium during the menstrual cycle. J.Steroid.Biochem. 5: 447,1974

48) Hayward, J.L., Carcone,P.P., Heuson,J.C., Kumaoka,A., Segaloff, R.D.: Assessment of respones to therapy in advanced breast cancers. Cancer 39: 1289, 1977

49) Hertogh de, R., Billiet, G., Ide, P., Bonte,J., Wynants,P.: Estrogen receptors in huamn uterine adenocarcinoma. Correlation with tissue differentiation, vaginal karyopygnotic index and effect of progestagen treatment. Cancer treatment reports Vol.63/7:1187,1979

50) Heuson,J.C.: Quantitative aspects of steroid receptors in breast cancer.
First Innsbruck Winter Conference January 1978

51) Higgins, S.J., Rousseau, G.G., Baxter, J.D., Tomkins, G.M.: Nature of nuclear acceptor sites for glucocorticoid and estrogen-receptor complex.
J.Biol.Chem. 248, 5873, 1973

52) Hnilica, L.S.: The structure and biological function of histones. Cleveland, CRC Press, 1972

53) Hohlweg, W.: Veränderungen des Hypophysenvorderlappens und des Ovariums nach Behandlung mit großen Dosen von Follikelhormon. Klin.Wschr. 13, 92, 1934

54) Hohlweg, W., Kunkmann,K.: Die hormonal-nervöse Regulierung der Funktion des Hypophysenvorderlappens. Klin.Wschr.11:31,1932

55) Horwitz,K.B., Mc Guire, W.L.: Estrogen and Progesterone: Their Relationship in Hormon Dependent Breast Cancer. In: Progesterone Receptors in Normal and Neoplastic Tissues. Eds.: Mc Guire, Raynaud and Baulieu, Raven Press, New York 1977

56) Huggins, Ch., Ling-Yuan Dito, T.: Adrenalectomy for mammary cancer. Ann.Surg. 136: 595 1952

57) Hunter, R.E., Jordan, V.C.: Detection of the 8S oestrogen-binding component in human uterine endometrium during the menstrual cycle.
J.Endocr. 65:457, 1975

58) Jänne,O., Kontula,K., Vihko,B.: Mechanism of action of female sex steroids.
Acta Obstet.Gynecol.Scand.,Suppl. 51/31,1975

59) Jensen,E.V.: Hormone dependency in human breast cancer. First Innsbruck Winter Conference, January 1978

60) Jensen, E.V.., Sombre de. E.R., Jungblut, P.W.: Estrogen receptors in hormone responsive tissues and tumours. In: Endogenous factors influencing host-tumour balance. Eds. R.W.Wissler, T.L.Dao,S.Woods jr. University of Chicago Press: 15, 1968

61) Jensen, E.V., Sombre de, E.R., Jungblut, P.W.: Estrogenous Factors Influencing Host- Tumour Balance. Eds. R.W. Wissler, T.L. Dao, and S.Wood. Jr. pp 15-30: University of Chicago Press. Chicago 1967

62) Jensen, E.V., Pollex, T.Z., Smith, S., Block,G.E., Ferguson, D.J., De Sombre, E.R.: Prediction of hormone dependency in human breast cancer. In: Estrogen receptors in human breast-cancer. Raven Press 1975

63) Jensen,E.V., Jacobson, H.J.: Basic guides to the mechanism of estrogen action.
Recent.Progr.Hormone Res. 18: 87, 1962

64) Jensen, E.V., Block, G.E., Smith, S., Kyser, K., Sombre de, E.R.: Nat.Cancer Inst. Monogr. 34,55,1971

65) Jensen, E.V., Jacobson, H.J.: Fate of Steroid Estrogens in Target Tissues. In: Biological Activities of Steroids in Relation to Cancer. Eds.: G.Pincus and E.C. Vollmer, Academic Press, New York (1960)pp161

66) Johansson, E.D.B.: Progesterone levels in peripheral plasma during the luteal phase of the hormonal human menstrual cycle measured by a rapid competitive protein binding technique. Acta Endocrinol. 63:592, 1969

67) Johansson, C.E., Decker, D.G., Vanherik, M.:
Am.Reontgenol. Radium Ther., Nucl., Med.114:136, 1972

68) Jungblut, P.W., Sombre de, T., Jensen, E.V.:
Estrogen receptors in induced rat mammary tumour.
In: Hormone in Genese und Therapie des Mammakarzinoms.
Abhandlungen der Deutschen Akademie der Wissenschaften in Berlin. 109, 1967

69) Jungblut, P.W., Hätzel, J., Sombre de, E.R., Jensen E.V.:
Über Hormon-"Rezeptoren". Die östrogenbindenden Prinzipien der Erfolgsorgane. 18. Colloquium der Gesellschaft für Physiologische Chemie vom 5.-8.April 1967 in Mosbach/baden.
Springer, Berlin-Heidelberg - New York 58, 1967.

70) Jungblut,P.W., Hughes, A., Gaues, J., Kallweit, E., Szendor, P.J., Truitt, A.J., Wagner, R.K.: Functional Activities of Estradiol Receptor in the Presence and in the Absence of Steroid. Vortrag, gehalten anläßlich des Internationalen Symposiums über "Neuroendocrine Regulation Mechanisms". Belgrad 25.-26.5.1978

71) Kallas, H.: Parabiose und Hypophysenvorderlappen. Pflügers Arch.Ges.Physiol. 223:232, 1929

72) Kato,J.: In vitro uptake of tritiated oestradiol by the anterior hypothalamus and hypophysis of the rat. Acta Endocrinol. 64: 687, 1970

73) Kaufmann, C.: Die Behandlung der Amenorrhoe mit hohen Dosen von Ovarialhormonen. Klin.Wschr. 12:1557, 1933

74) Kauppila, A., Jänne, O., Syrijala, P., Vihko, R.: Estrogen and progestin receptors in benign and malignant ovarian tumours. Cancer Treatment Reports. Vol. 63,7,1187, 1979

75) King, R.J.B.: The prognostic significance of estrogen and progesterone receptor contents of human breast tissues in relation to the treatment of breast cancer. First Innsbruck Winter Conference, January 1978

76) King, R.J.B., Gordon, J.: The localization of (6,7-^{3}H) oestradiol-17ß in rat uterus. J. Endocrinol. 34:431,1966

77) King, R.J.B, Gordon, J.: Involvement of DNA in the acceptor mechanism for uterine estradiol receptor. Nature New Biol. 240: 185 1972

78) Kelley, R.M., Baker, W.H.: N.Eng.J.Med.264:216,1961

79) Kistner, R.W., In: Obstet. and Gynecol. Chicago Year book. Med. Publ. p 129, 1969

80) Koenders, A.J.M., Guerts-Moespot, A., Zolingen,S.F., Benraad, T.J.: Progesterone and estradiol receptors in DMBA - induced mammaray tumours before and after subsequent estradiol administration.

81) Korenman, S.G.: Relation between estrogen inhibitory activity and binding to cytosol of rabbit and human uterus.
Endocrinol. 87: 1119, 1970

82) Korenman, S.G.: Comparative binding affinity of estrogens and its relation to estrogenic potency.
Steroids 13: 163, 1969

83) Korenman, S.G., O'Malley B.w.: Progesterone action: Regualtion of avidin biosynthesis by hen oviduct in vivo and in vitro. Endocrinol.83:11,1968

84) Kuhn,R.W.,Schrader, W.T., Smith, R.G., O'Malley,B.W.: Progesterone binding components of chick oviduct.
J. Biol.Chem. 250: 4220, 1975

85) Kuipers T.J.: Proc. 2nd Int.Symp.
"New developments in gynaecological endocrinology."
Sittard, Niederlande 3.10.70

86) Leake, R.E., McBeth, F., Smith, D.C., Calman, K.C., Laing,L.: Steroid Hormone Receptor Status as an Index of Prognosis and in Therapy Selection.
Cancer Treatment Reports Vol. 63,7: 1188, 1979.

87) Leyendecker, G., Nocke,W.: Die endokrine Regulation des menstruellen Zyklus. Fortschr.Med. 33:1910, 1976

88) Liang, T., Liao,S.: Interaction of oestradiol- and progesterone-receptors with nucleoprotein. Heatlabile acceptor factors. Biochem. Biophys. Acta 277:590,1972

89) Liang,T.,Liao,S.: Association of the uterine 17-ß oestradiol-receptors complex with ribonucleoprotein in vitro and in vivo. J.Biol.Chem.249:4671,1974

90) Liao,S., Liang,T., Tymoczko,L.: Structural recognitions of androgens and receptor proteins and their association with nuclear acceptor components. J.Steroid.Biochem.3:401, 1972

91) Lippman, M.E., Allegra, J.C., Thompson, E.B., Simon,R., Barlock,A., Green,L., Huff,K.K., Ny t Do,H., Altken,S.C., Warren, R.: The realtion between estrogen receptors and response rate to cytotoxic chemotherapy in metastatic breast cancer. N.Eng.J.Med.298:1223, 1978

92) Luu Thi, M.J., Baulieux,E.E., Milgrom,E.: Comparison of the characteristics and of the hormonal control of endometrial and myometrial progesterone receptors. J.Endocrinol. 66:349, 1975

93) Maass, H., Jonat, W.: Principles of endocrine treatment of advanced breast cancer. International Symposion on Breast Cancer, Heidelberg 1978. In Press.

94) Maass, H., Engel, B., Nowakowsky, H., Stolzenbach, G., Trams,G.: Estrogen receptors in human breast cancer and clinical correlations. In: Estrogen receptor in human breast cancer.Raven Press 1975

95) Maillot, K. von: Fortgeschrittenes Mammakarzinom Hormontherapie und Steroid-Rezeptoranalyse. Geb. u. Frauenheil. 39: 177-186,1979

96) Makler, A., Eisenfeld, A.J.: In vitro binding of ^{3}H-estradiol at macromolecules from the human endometrium. J.Clin.Endocrinol.Metab. 38:628, 1974

97) Matsumoto,K., Och,H., Nomura,Y., Takatani, O., Izio,M., Okamoto,R., Sugano,H.: Progesterone and Estrogen Receptors in Japanese Breast Cancer. In: Hormones, Receptors and Breast Cancer, ed. by W.L. Mc Guire, Raven Press, New York 1978

98) Mc Guire,W.L.: Diskussionsbeitrag anläßlich der Second Cancer Working Conference, Kopenhagen 31.5.-2.6.1979

99) Mc Guire,W.L., Horwitz,K.B.: Progesterone Receptors in Breast Cancer. Progress in Cancer Research and Therapie. Vol. 10, Raven Press 1978

100) Mc Guire,W.L., Zava, D.T., Horwitz,K.B., Chamness,G.C.: Selecting breast cancer patients for endocrine therapy Rev. on Endocrine Related Cancer, Suppl.,April 1978

101) Mc Guire,W.L., Carbone,P.P., Sears,M.E., Escher,G.C.: Estrogen receptors in human breast cancer:An overview. In: Estrogen receptors in human breast cancer, Raven Press 1975, ed. by W.L. Mc Guire

102) Mercier-Badoard, C., Alfsen, A., Baulieu, E.E.: Sex steroid binding plasma protein. (SBP) Acta Endocrinol. Suppl. 147:204, 1970

103) Meyer, R.: Lehre von der normalen und krankhaften Ovulation und der mit ihr in Beziehung gebrachten Vorgänge am Uterus. Arch. Gynäk. 113:259, 1920

104) Milgrom, E., Thi, L., Atger, M., Baulieu, E.E.: Mechanism of regulting the concentration and the conformation of progesterone receptors in the uterus. J.Biol.Chem. 248, 6466, 1973

105) Miller, B.G.: Effect of progesterone on the synthesis of ribonucleic acids in the uterus. Biochem.Biophys.Acta 299: 568, 1973

106) Nocke, W., Leyendecker,G.: Neue Erkenntnisse über die endokrine Physiologie des menstruellen Zyklus. Der Gynäkologe 5: 39, 1972

107) Nordquist, S.: Hormonal Responsiveness of Human Endometrial Carcinoma. Studied in vitro and vivo. Student literatur Lund.

108) Noteboom, W., Gorski, J.: Stereospecific binding of estrogens in the rat uterus. Arch. Biochem.Biophys. 11: 559, 1965

109) Notides,A.C., Hamilton,D.E., Rudolph, J.H.: The action of a human uterine protease on the estrogen receptor. Endocrinology 93, 210, 1973

110) O'Malley, B., Spelsberg, T.C., Schrader, W.T.: Chytin,F., Steggles, A.W.: Mechanism of interaction of a hormone-receptor complex with the genome of an eukaryotic target cell. Nature (London) 235:141, 1972

111) O'Malley, B.W.: In vitro hormonal induction of a specific protein (avidin) in chick oviduct. Biochemistry 6:2546, 1967

112) O'Malley, B.W., Means, A.R.: Female steroid hormones and target cell nuclei. Science 183:610, 1974

113) O'Malley, B.W., Mc Guire, W.L.: Progesterone-induced synthesis of a new species of nuclear RNA. Endocrinology 84:63, 1968

114) O'Malley,B.W.:, Mc Guire, W.L, Kohler, P.C., Korenman, S.G.: Studies on the mechanism of steroid regulation of synthesis of specific proteins.
Rec.Prog.Horm.Res. 25: 105, 1969

115) Ozaki, M., Kuracih, K.: Estrogen receptor in human endometrium. Energy requirement stability and subunit structure. Folia Endocrinol.Jap.52:774,1976

116) Pack,B.A., Brooks, S.C.: Cyclic activity of estrogen sulfotransferasesin the gilt uterus.
Endocrinology 95: 1680, 1974

117) Philibert,D., Raynaud,J.P.: Cytoplasmatic progestine receptors in mouse uterus. In: Progesterone receptors in normal and neoplastic tissues, ed. by W.L.Mc Guire, Raven Press 1977

118) Philibert,D., Raynaud,J.P.: Binding of progesterone and R 5020, a highly potent progestine, to human endometrium and myometrium. Contraception 10:457, 1974

119) Pollow,K., Schmidt-Gollwitzer,M., Nevinny-Stickel,J.: Progesterone receptors in normal human endometrium and endometrial carcinoma. In: Progesterone receptors in normal and neoplastic tissues. Ed. by W.L. Mc Guire, Raven Press, 1977

120) Pollow, K., Heszlinger, H., Schmidt-Gollwitzer, M., Pollow, B.: Nuclear non-histone chromosomal proteins (NHCP) from human endometrial tissue during menstrual cycle. In: Endometrial Cancer ed.by Bailliere, London, 1977 (im Druck)

121) Puca, G.A., Nola, e., Sica, V., Brseciani,F.: Estrogen-binding proteins of calf uterus. Interrelationship between various forms and identification of a receptortransforming factor. Biochemistry 11: 4157,1972

122) Rao, B.R., Wiest, W.G., Allen W.M.: Progesterone-receptor in rabbit uterus, the characterization and Estradiol-17ß augmentation.Endocrinology 92:1229,1973

123) Rosen,P.P., Menendez-Botet,C.J., Senie,R.T., Schwartz, M.K., Schottenfeld, D., Farr, G.H.: Estrogen Receptor Protein and the Histopathology of Human Mammary Carcinoma. In: Hormon Receptors and Breast Cancer, ed. by W.L. Mc Guire, Raven Press, New York 1978

124) Ross, G.T., Cargille, C.M., Lipsett, M.B., Rayford, P.L., Marshall, J.R., Strott, C.A., Rodbard, D.: Pituitary and gonadal hormones in women during spontanous and induced ovulatory cycles. Rec.Prog.Horm.Res. 26:1 , 1970

125) Samal, B., Singhakowinta, Brooks,S.C., Vaikerrious,V.K.: Estrogen receptors and response of breast cancer to chemo-therapy. New Eng.J.Med. 299:604, 1978

126) Savlow, E.D., Wittliff,J.L., Hilf, R.: Correlation between certain biochemical properties of breast cancer and response to therapy: a preliminary report. Cancer 33: 303, 1974

127) Scatchard, D.G.: The attraction of proteins for small molecules and ions. Ann.N.Y.Acad. Sci 51: 660 (1949)

128) Seewald,H.J., Böhm,W.: Zbl. Gynäk., 96:153, 1973

129) Sheridan, P.J., Sar, P.J., Stumpf, W.E.: Cellular and subcellular localization of ^{3}H-oestradiol in the oviduct of the neonatal. Acta Endocrinol. 76:570,1974

130) Sherman, M.R. Pickering, L.A., Rollwagen, F.M., Miller, L.K.: Mero receptors: proteolytic fragments of receptors containing the steroid binding site. Federation Proc. 37:167, 1978

131) Sherman, M.R. Tuazon, F.B., Diaz, S.Z., Miller, L.K.: Multiple forms of oviduct progesterone receptors analyzed by ion exchange filtration and gelelectrophoresis. Biochemistry 15:980, 1976

132) Shymala, G.: Is the estrogen receptor of mammary gland a metallo protein. Biochem. Biophys. Res. Commun. 64: 408, 1975

133) Sica,V., Nola, E., Parikh,J., Puca, G.A., Cuatrecasas,P.: Purification of oestradiol receptor by affinity chromatography.
Nature New Biology 244: 36, 1973

134) Simmer, H.H.: Ophorectomy for breast patients: Its proposal, first performance, and first explanation as an endocrine ablation. Clin.Med.Vol. 227 (1969)

135) Smith,H.E., Smith,R.G., Toft, D.O., Neergard, J.R., Burrwos, E.P.,O'Malley, B.W.: Binding of steroids to progesterone receptor proteins in chick oviduct and human uterus. J.Biol.Chem.249:5294, 1974

136) Smith, J.P., Rutledge,E., Soffar, S.W.:
Am.J.Obstet.Gynecol. 94, 977, 1966

137) Smith, r.G., Iramain, C.A., Buttram, V.C., O'Malley,B.W.: Purification of human uterine progesterone receptor. Nature 253:271, 1975

138) Spelsberg,T.C. Steggles, A.W., O'Malley,B.W.: Progesterone-binding components of chick-oviduct. II.Chromatin acceptor sites.J.Biol.Chem 246:4188,1971

139) Schally, A.V., Arimura, A., Bowers, C.Y., Sawano,S., Redding, T.V.: Hypothalamic neurohormones regulating anterior pituitary function.
Rec.Prog.Horm.Res. 24: 497, 1968

140) Schally,A.V., Arimaura,A., Baba, Y., Nair, R.M.G., Matsuo, H., Redding, T.W., Debeljuk, L.:
Isolation and properties of FSH- and LH-releasing hormone. Biochem.Biophys.REs.Commun. 43:393, 1971

141) Schinzinger, A.S.: Über Carcinoma Mammae. Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie, 18. Kongreß, Berlin 24-27 April 1889. Hirschwald Berlin (1889)

142) Schmidt-Gollwitzer, M., Müller,E., Metscher,B., Nevinny-Stickel,J.: Serum concentration of gonadotropin-releasing hormon (Gn-RH), gonadotropins and steroids during menstrual cycle. Development of radio immunoassay for Gm-RH. Symposium of the International Society of Psychoendocrinology, Visigrad 1975. In: Cellular and molecular bates of neuroendocrine processes, ed.by E. Endoroczi, p. 123, Academic Kiado, Budapest, 1976

143) Schrader, W.T., Heuer, S.S., O'Malley, B.W.: Progesterone receptors of chick oviduct. Identification of 6S receptor dimers. Biol.Reprod. 12: 134, 1975

144) Schröder,R.: Der menstruelle Genitalzyklus des Weibes und seine Störungen. In: Hdb. der Gynäkologie Bd.I:2, Hsg.: Stockel, W.G.F. Bergmann-Verlag, München 1928

145) Schwarz, S.: Simple computer program for physicochemical analysis of macromolecule-ligand interactions. Cancer Treatment Reports 63:7, 1979

146) Schwartz, R.J., Chang, C., Schrader, W.T, O'Malley,B.W.: Effect of progesterone receptors on transcription. Ann.N.Y.Acad.Sci.286:147,1977

147) Stein,G.S., Spelsberg, T.C., Klein-Smith, L.J.: Nonhistone chromosomal proteins and gene regulation. Science 183: 817, 1974

148) Stockard, C.R., Papanicolaou. G.N.: The existence of a typical oestrus cycle in the guinea pig with a study of its histologic and physiolgic changes. Ann.J.Anat. 22:225, 1917

149) Stool, B.: Neue Entwicklung in der endokrinen Behandlung des Mamma Karzinoms. Secon Breast Cancer Working Conference, Kopenhagen 31.5-2.6.1974

150) Stone,G.M., Baggett, B., Donnelly, R.B.: The uptake of tritiated oestrogens by various organs of the ovariectomized mouse following intravenous administration. J.Endocrinol. 27:271,1963

151) Strott, C.A.: Metabolism of progesterone in the chick oviduct. Relation to the progesterone receptor and biological activity. Endocrinology 95: 826, 1974

152) Stumpf, W.E., Sar, M: Cellular and subcellular localization of ^{3}H-progesterone and its metabolites in endometrium and myometrium. Endocrinology 81: 167,1967

153) Talwar, C.P., Sopori, M.L., Biswizs, D.K., Segal,J.S.: Human reproduction. Biochem.J. 107: 765, 1964

154) Tobias,J.S., Grifiths,C.T.: Management of ovarian carcinoma. The New England J. of Med. 294,16:877, 1976

155) Toft, D., Gorski, J.: A receptor molecule for estrogens: Isolation from the rat uterus and preliminary characterization.
Proc.Nat.Acad.Sci. USA 55, 1740, 1966

156) Toft, D., Gorski, J.: A receptor protein for estrogens: its isolation and preliminary characterization.
J.Cell.Biol. 27:107, 17, 1965

157) Träger, L.: Steroidhormone.
Springer Verlag, Berlin 1977

158) Trams, G., Engel, B., Lehmann, F., Maass, H.:
Specific binding of oestradiol in human uterine tissue.
Acta Endocrinol. 72: 351, 1973

159) Tseng, L., Gusberg, S.B., Gurpide, E.:
Estradiol receptor and 17-ß-dehydrogenase in normal and abnormal human endometrium. Annals of the New York Academy of Sciences 286: 190, 1977

160) Wagner, R.K., Jungblut, P.W.: Comprehensive analysis of hormone- sensitivity in single biopsies.
First international Congress on Hormones and Cancer.
Rome 3.-6.10. 1979

161) Wait,R.B: Obstet. and Gynaecol. 41, 1:129,1976

162) Waddell, W.J.: A simple ultraviolett spectrophotometric method for the determination of proteins.
J.Lab. Clin. Med. 48: 311, 1956

163) Webbster, D.J.T., D.G.Bronn, J.P.Minton:
Estrogen receptors and response of breast cancer to chemotherapy. New Engl.J.Med. 299:604, 1978

164) Whitson, G.L.: Cell culture of mammalian endometrium and synthesis of beastikinin in vitro. Science 183:668, 1974

165) Wiele van de, R.L., Dyrenfurth,J.: Gonadotropin-steroid interrelationships. Pharmacol. Rev. 25:2, 1973

166) Wiele von de, R.L., Bogumil, J., Dyrenfurth, J., Ferin, M., Jewelenwicz, R., Warren, M., Rizkallah, T., Mikhail, G.: Mechanisms regulating the menstrual cycle in women. Rec. Prog.Horm.Res., 26:63, 1970

167) Wiest, W.G., Rao, B.R.: Progesterone binding proteins in rabbit uterus and human endometrium. Adv. in the Biosc. 7: 21, 1971

168) Wittliff, J., Beatty, W.B., Baker jr., D.T., Savlov,E.D., Cooper jr., R.A.: Clinical significance of molecular forms of estrogen receptors in human breast cancer. Res. on Steroids 7: 393, 1977

169) Wittliff, J.L., Hilf, R., Brooks, W.F.: Specific estrogen binding capacity of the cytoplasmic receptor in normal and neoplastic breast tissues of humans. Cancer Res. 92:1983,1972

170) Wittliff, J.L.: Specific receptors of the steroid hormones in breast cancer. Seminars in Oncology 1,2: 43, 1974

171) Wittliff, J.L., Lewiko, M.W., Park, D.C., Kute, T.E., Baker, t., Kane, N.: Steroid binding proteins of mammary tissues and their clinical significance in breast cancer. In:Hormones, Receptors and Breast Cancer, ed.by W.L. Mc Guire, Raven Press, New York, 1978

172) Wittliff, J.L.: Savlov, E.D.: Estrogen binding capacity of cytoplasmic form of the estrogen receptors in human breast cancer. In: Estrogen Receptors in Human Breast Cancer, ed. by W.L. Mc Guire, Raven Press, New York, 1975

173) Woods, K.L., Cove, D.H., Howell, A.: Lactalbumin synthesis as a possible indicator of hormon responsiveness of human mammary carcinoms. Wembley conference of biologcial and immunological aspects of tumour markers, London-Wembley April 1977

174) Woolever, C.A.: Daily plasma progesterone levels during the menstrual cycle.Am.J.Obstet.Gynecol. 85:981,1963

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Günter Daxenbichler, dem Leiter des Labors für Fortpflanzungsfragen an der Univ.-Frauenklinik in Innsbruck (Vorstand:Prof.Dr.O.Dapunt).

Sein Wissen und seine Erfahrung halfen mir außerordentlich, diese Arbeit zu vollenden. Sowohl in schwierigen aber auch in freudigen Zeiten war er stets bereit in seiner freundschaftlichen Art,mit seinem Rat den Fortlauf der Untersuchungen zu beschleunigen.

Speziellen Dank empfinde ich für Herrn Prof.Dr.Otto Dapunt, durch dessen Anregung die Arbeit zustande kam. Seine klinische und endokrinologische Erfahrung, aber auch vor allem seine innere Anteilnahme waren stets ein Ansporn für mich, die Arbeit zu vervollständigen.

Ebenfalls bin ich den Mitarbeitern im Labor für Fortpflazungsfragen Herrn Hansjörg Grill, Herrn Walter Scholz, Frau Margit Summerer für ihre Unterstützung zu Dank verpflichtet. Für ihre unermüdliche Schreibarbeit bedanke ich mich herzlich bei Fräulein Maria Bachmann, bei Herrn Thomas Jennewein für seine Hilfe bei Erstellung der Tabellen.

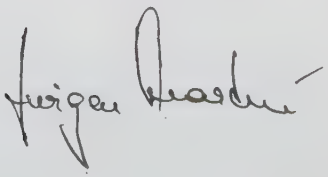
L e b e n s l a u f

Geburt: 7.12.1941 in Dessau
Mutter: Anneliese Martin, geb. Fülling,
geb. 15.8.1915
Vater: Rudolf Martin, Dr. med.
geb. 11.7.1912, gestorben 30.5.1978
Facharzt für Gynäkologie und Geburtshilfe

Volksschule: Gießen
Gymnasium: Humanistisches Gymnasium Gießen
Paul-Gerhard-Schule Laubach, Hessen
Abitur: 22.2.1963
Studium: Medizin
Physikum: 1966 Universität Kiel
Staatsexamen: 1969 Universität Heidelberg
Klinikum Mannheim

Medizinalassistent: 1970 Kreißkrankenhaus Garmisch
6 Monate Chirurgie
1970 Med.Univ.-Klinik Gießen
6 Monate Interne Medizin

Facharztausbildung: 1971-1973 Evangelisches Schwesternhaus
Gießen
30 Monate Gynäkologie
Seit 1973 Univ.-Frauenklinik Innsbruck
1979 Urologische Univ.-Klinik Innsbruck
6 Monate Urologie



Druck: Böhler-Verlag 87 Würzburg, Seilerstr. 10-10a